Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

Der Einfluß essentieller Phospholipide auf den Erythrozyten- und Plasma-Phospholipidspiegel bei normalen und Fettstoffwechselpatienten

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Eva-Maria Wilhelm

aus Homburg/Saar

Würzburg, den 22. Juni 1982

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

Der Einfluß essentieller Phospholipide auf den Erythrozyten- und Plasma-Phospholipidspiegel bei normalen und Fettstoffwechselpatienten

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Eva-Maria Wilhelm

aus Homburg/Saar

Würzburg, den 22. Juni 1982

Referent:	Prof. Dr. med. Dipl. chem. L. Maiwald
Korreferent:	Prof. Dr. med. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. med. K.-A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Juli 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

MEINEN LIEBEN ELTERN

MEINEN LIEBEN GESCHWISTERN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543522_0041

I. EINLEITUNG

Die Phospholipidbehandlung gilt heute nur als wirksam hinsichtlich des Galle-, Cholesterin- und Triglyceridstoffwechsels. Allgemein orientierende Untersuchungen haben ergeben, daß bei Zugabe essentieller Phospholipide zu Citratblut unterschiedliche Phospholipidmengen nach Inkubation des Blutes gefunden werden können.

Die vorliegende Arbeit stellt den Versuch dar, die stoffwechselverändernde Wirkung essentieller Phospholipide auf Erythrozyten von Normalpersonen und Fettstoffwechselpatienten zu prüfen und eine Aussage zu erhalten, ob Unterschiede des Stoffwechsels in den Erythrozyten dieser beiden Probandengruppen bestehen.

II. ALLGEMEINER TEIL

A) Allgemeine Bedeutung der Phospholipide für Zellmembranbau und Zellmembranstoffwechsel

B) Bisherige Arbeiten, welche eine Beteiligung der Erythrozyten an Phospholipidumsetzungen wahrscheinlich machen (Literatur)

C) Abhängigkeiten der Phospholipidbildung von Stoffwechselbedingungen (Angebot; Resorption; Leberzustand; Galleabfluß)

D) Die Beschreibung von Lezithin-Cholesterin-Acyl-Transferase für die Umsetzung von Cholesterin

III. FRAGESTELLUNG

A) a Unterscheiden sich Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung (Hypercholesterinämie; Hypertriglyceridämie; Hypercholesterinämie unter Berücksichtigung des Triglyceridspiegels) hinsichtlich der Phospholipidfreisetzung eindeutig, wenn Citratblut mit essentiellen Phospholipiden in vitro inkubiert wird und

A) b Unterscheiden sich Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung (Hypercholesterinämie) hinsichtlich der PL-Freisetzung eindeutig, wenn Liqueminblut mit EPL in vitro inkubiert wird?

B) Bestehen auffallende Unterschiede des Ergebnisses

a in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

b in Abhängigkeit von der essentiellen Phospholipidzugabe

c in Abhängigkeit von dem Medium (Plasma, bzw. Blutkuchen)

C) Gibt es klinische Beispiele, daß excessiv hohe oder niedrige Umsetzungsraten für Phospholipide nach Zugabe von essentiellen Phospholipiden in vitro nachgewiesen werden konnten?

IV. PROBANDENGUT, UNTERSUCHUNGSVERFAHREN, PHOSPHOLIPIDBESTIMMUNGSMETHODE, ART DER AUSWERTUNG

V. ERGEBNISSE

A) Ergebnisse zur Frage A
B) Ergebnisse zur Frage B
C) Ergebnisse zur Frage C
D) Zusammenfassung der Ergebnisse

VI. DISKUSSION

A) Diskussion des Verfahrens und der Methode
B) Diskussion der Ergebnisse unter Verwendung der Literaturzusammenfassung
C) Bedeutung für die praktische Diagnostik und die Verlaufsbeurteilung

VII. ALLGEMEINE ZUSAMMENFASSUNG

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN

PL	=	Phospholipid
PÄ	=	Phosphatidyläthanolamin
PS	=	" serin
P-In	=	" inosit
Sph	=	Sphingomyelin
P-Ch	=	Phosphatidylcholin
FS	=	Fettsäure
Chol	=	Cholesterin
CDAcGP	=	Cytosin-Di-Acetyl-Guanin-Phosphat
CMAcGP	=	Cytosin-Mono-Acetyl-Guanin-Phosphat
LCAT	=	Lezitin-Cholesterin-Acyl-Transferase
Ery	=	Erythrozyt
UC	=	unverestertes Cholesterin
HDL	=	High Density Lipoprotein
LDL	=	Low Density Lipoprotein
VLDL	=	Very Low Density Lipoprotein
ATP	=	Adenosintriphosphat
LP-X	=	Lipoprotein X

II. ALLGEMEINER TEIL

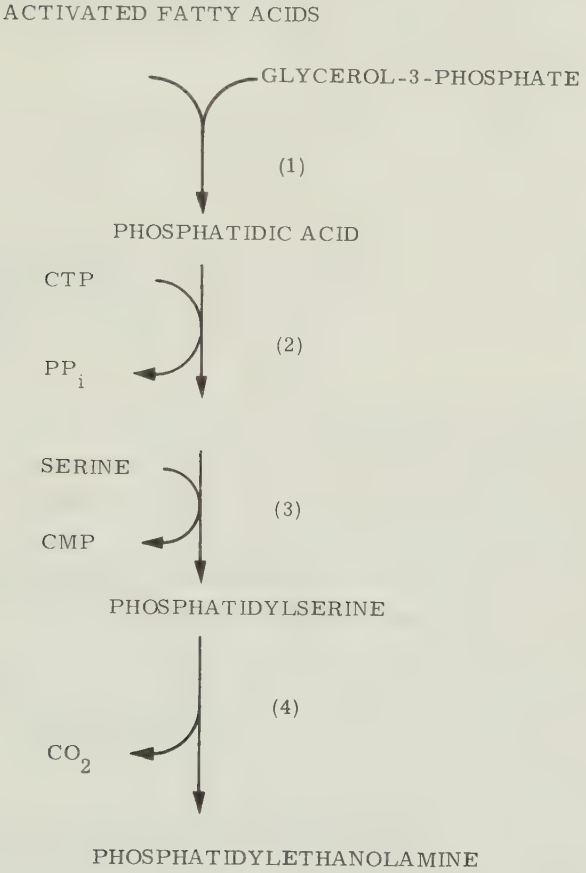
A) ALLGEMEINE BEDEUTUNG DER PL FÜR DEN ZELLMEMBRANBAU UND ZELLMEMBRANSTOFFWECHSEL

PL sind essentielle Bestandteile biologischer Membrane und dienen dazu, Membranstruktur und Membranfunktion aufrecht zu erhalten. Folgende PL finden sich in biologischen Membranen:
Lezithin (=PCh), ein starkes polares Zwitterion
PÄ, ein schwächeres Zwitterion mit schwacher Tendenz zurSäure,
Sph, ein Zwitterion
P-In, ein saures PL
Cardiolipin, ein stark saures PL
PS, ein stark saures PL.
Bei einem neutralen pH-Wert von 7 sind PCh, Sph - beide mit der PCh Endgruppe - und PÄ als Membran-PL Zwitterionen; diese Moleküle bilden 40-60 % der Gesamt-PL der Membranen und die hochsauren PS, P-In und Phosphatidsäuren bis zu 25% der Gesamt-PL mit einer kleinen negativen Ladung. Die Nettoladung in der Lipidphase der Membranen ist negativ.
Die PL sind charakterisiert durch ihre hochgradig ungesättigten FS-Reste; das heißt im Durchschnitt befinden sich mindestens 2-3 ungesättigte Bindungen pro Atom Phosphor (Nr. 1, 2, 3).

Die PL-Synthese der Zellmembranen ist abhängig von der Gabe, dem Grad der Sättigung und der Kettenlänge der Diglyceride; z.B. ist die Bildung von PÄ abhängig von der Länge der Ketten der zugegebenen Diglyceride. Die Bildung der Diglyceride hat außer der Phosphatidsäure noch andere Quellen; diese stammen aus einem Glycerolipidpool, der jedoch noch nicht definiert werden

konnte. Eine andere Möglichkeit der PL-Synthese, der Basenaustausch, steht zur Debatte. Der Basen-Austausch besitzt jedoch nur eine geringe quantitative Bedeutung (5). Z. B. die Biosynthese des PÄ in E. coli:
Die PÄ-Synthese wird von Proteinen der cytoplasmatischen Seite katalysiert. Die ersten drei Schritte resultieren aus der Bildung zu PS, wozu alle wasserlöslichen Moleküle im Cytoplasma - wie Cytidintriphosphat, Glycerol-3-Phosphat und Serin benutzt werden. Die Decarboxylierung von PS zu PÄ ist der letzte Schritt; die Decarboylase ist ein Intrinsic Protein der Membran auf der cytoplasmatischen Seite (s. Schema 1) (5).

Schema 1



Biosynthese von Phosphatidyläthanolamin in Escherichia coli

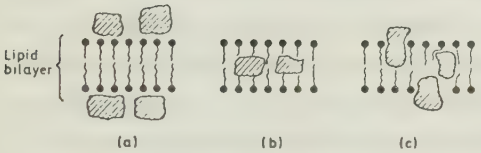
Nach der Biosynthese werden die PL an die äußere Membran geschleust. Die metabolische Synthese divergiert bei den einzelnen PL; auch ist die Synthese ein und desselben PL von Gewebe zu Gewebe unterschiedlich.

Biologische Membranen sind durch eine spezifische Anordnung der Proteine und micellar angeordnete PL organisiert. Den Hauptbestandteil der Membran bildet der bimolekulare, micellar-geformte PL-Layer mit Proteinen, die mittels elektrostatischer Kräfte an den polaren Gruppen an jeder Seite des Bilayers haften. Diese Interaktion zwischen Lipid und Protein, die ein polares und apolares Element hervorrufen, spricht für die Sandwich-Struktur der Membran. Mittels Durchbrechung von Röntgenstrahlen, Gefrieren und elektronenmikroskopischen Untersuchungen ließ sich ein lamellarer Bilayer, auch der Ery-Membran, nachweisen. Das zur Zeit akzeptierte Modell "the fluid mosaic model" einer biologischen Membran ist noch umstritten, da die Erklärung einiger Membraneigentümlichkeiten noch Schwierigkeiten bereitet; so können bislang Fluidität und aktiver Transport mit den Protein-Lipid-Bindungen auf molekularer Ebene noch nicht in Einklang gebracht werden. Falls es trotz einer flachen Doppelmembran ein Gebiet hoher Krümmung gibt, wie das in inneren Membranen der Mitochondrien der Fall ist, würde den Molekülen von der Seite ihrer jeweiligen Lage abhängig - die Bildung einer entsprechend größeren oder kleineren Fläche ermöglicht, und der Krümmungsradius könnte für die Kompression und Position der PL-Klassen bestimmend sein (7, 8, 1, 9, 2, 3).

PL bilden nicht allein den Zellmembranbau; mit Cholesterin und Glykolipiden bauen sie eine Lipidphase auf, die immer mit Proteinen verbunden ist.

In den biologischen Membranen gehen PL Interaktionen mit den Membranproteinen ein, die einen großen Teil des totalen Zellproteins darstellen. Über die Art und Weise der PL-Protein-Bindung in einer Doppelmembran gibt es folgende Modelle: (s. Schema 2 (9).

Schema 2



Möglichkeiten der Proteinbindungen in einer Phospholipid-Doppelmembran

1. Die Proteinbindung an PL in a ist vornehmlich elektrostatischer Art oder eine Hydrogenbindung. Durch Manipulation der Ionenbindung und des pH-Werts des Mediums dissoziieren oder lösen die Lipide die Proteine.
2. Die Protein-Lipid-Interaktion in b besteht aus einer Bindung der apolaren Seitenketten der Aminosäuren mit den Hydrocarbonketten der FS.
3. Der Fall c ist ein Kompromiß zwischen a und b (9).

Die Protein- und Lipidmoleküle sind in einem nicht zu ordnenden Muster in der Membran verteilt.
In Zellmembranen und in Membranen synaptischer Vesikel gibt es auch einen Anteil an Chol. - integrierter Bestandteil der meisten Membranen - das strukturelle Bedeutung besitzt und in einem bestimmten Anteil in der PL-Phase vorhanden ist. Für die Interaktion des Chol mit dem angrenzenden PL ist die OH-Gruppe am C-3 und die spezifische ß-Orientierung.

Das normale molare Verhältnis von PL zu Chol der Zellmembran beträgt: C/PL = 0,9 - 1,0 (10). Man nimmt an, daß Chol die Bewegung der PL-Hydrocarbonketten einschränkt, um einen geordneten Oberflächenbilayer zu erzielen.
Die Fluidität der FS-Ketten in einem Bilayer komplexer Lipide liegt unter der Kontrolle des Chol, um so eine relativ konstante und gleichmäßige bewegliche Mitte - das Hydrogencarbongebiet - der Doppelmembran aufrecht zu erhalten.
Die FS-Ketten der PL-Moleküle befinden sich alle in einem beweglichen Zwischenstadium, d.h., daß bei geringen Chol-Mengen die PL beweglicher sind. Bei ansteigendem Chol-Gehalt kann Chol die Mobilität der PL-Acylketten einschränken, so daß die Lipidmembran unbeweglicher und sogar starr wird. Das Maximum der Interaktion ist bei einem C/PL = 1:1. Daher steht die dynamische Eigenschaft des Lipid-Bilayers in direktem Verhältnis zur C/PL (11). Permeabilitätsveränderungen der Lipidbilayer, die Chol durch Variation der Ladung der PL-Endgruppen bedingt, werden durch Zugabe von Chol verursacht (8, 12, 1, 5, 9).

Es ist heutzutage offensichtlich, daß PL sich in den meisten Geweben in einem dynamischen Zustand befinden, das heißt sie werden kontinuierlich auf- und abgebaut. Eine interessante Ausnahme stellt die metabolische Stabilität der PL in der Myelinscheide einer Nervenfaser dar.
Die Dynamik der PL zeigt sich in zwei Erscheinungen, nämlich der beugenden Bewegung der Hydrocarbonketten und der seitlichen Weg- und Weiterbewegung einzelner Moleküle, die nur in einer Ebene der Membran stattfindet. Diese Bewegung ist nicht identisch mit dem Flip-Flop von Molekülen, denn dieser stellt eine Bewegung von der einen Hälfte zuranderen dar. Diese laterale Fortbewegung besagt nun, daß spezielle PL-Arten nur auf einer Membranhälfte lokalisiert sind (11, 9).

Eine schnelle transmembrane Bewegung erscheint jedoch wesentlich für die Zusammensetzung der Membranbilayer. Sie spielt eine wichtige Rolle in der Herstellung einer Lipidasymmetrie, die durch eine unterschiedliche Verteilung der PL auf beiden Seiten des Membranbilayers zustande kommt. Die Translokation von PL von der inneren zur äußeren Membran ist schnell und ausreichend und resultiert aus einem offensichtlichen Gleichgewicht zwischen beiden Membranhälften. Wodurch aber die Lipidasymmetrie in biologischen Membranen aufrecht erhalten wird, ob durch spontane Diffusion als Flip-Flop oder mit einem Membranprotein als Katalysator, konnte noch nicht geklärt werden. Für die funktionelle Bedeutung der Lipidasymmetrie konnte noch kein befriedigendes Ergebnis gefunden werden.

Die asymmetrische Verteilung der PL sieht folgendermaßen aus: An der Außenseite der Doppelmembran finden sich vorzugsweise PCh und Sph, während an der Innenseite PÄ, PS und P-In lokalisiert sind (7, 6, 8, 5, 13, 14).

Lipide halten aufgrund ihrer Anordnung den Bilayer unter physiologischen Bedingungen thermodynamisch stabil. Die Membranstabilität, bei der die polare Kopfgruppe eine Rolle spielt, ist nämlich Voraussetzung für eine normale Zellfunktion. Die PL, wie PS mit negativer Ladung, versehen die Membran mit Kationeneigenschaften; insgesamt ist die Nettoladung der Lipidphase der Membrane negativ, so daß die Lipide an elektrischen und permeablen Membranfunktionen teilnehmen können.

PL mit ihrer asymmetrischen Verteilung an der Innen- und Außenseite der Membran wirken ebenfalls mit bei der Aufnahme der LDL in die Membran (15, 8, 1, 9).

Die Abhängigkeit gewisser membrangebundener Enzymaktivitäten von PL läßt vermuten, daß eine Interaktion zwischen Lipiden und Enzymsystemen für die Aufrechterhaltung einer spezifischen Konfiguration des Enzymproteins oder für die Ermöglichung einer Interaktion zwischen Enzym und Substrat sorgt. Die Interaktion zwischen Enzymprotein und Lipid beruht wahrscheinlich auf elektrostatischer Basis; das heißt, in der intakten Membran sind viele Enzymproteine normalerweise elektrostatisch mit spezifischen Lipidmolekülen verbunden.

Die Interaktion spiegelt eine Spezifität der jeweils benötigten PL für die Konformation eines Enzymproteins wider und betrifft dabei die polare Kopfgruppe des Lipids. Diese spezifischen Reaktionen können einen wichtigen Grund für das Vorhandensein geringer Mengen dieser hochpolaren Membranlipide sein. Während manche Ergebnisse für eine spezifische Interaktion mit polaren Kopfgruppen sprechen, lassen andere Experimente vermuten, daß nur ein Teil der PL-Kopfgruppe in eine enge Interaktion mit dem Protein kommt.

Während einige Proteine nur locker mittels elektrostatischer Bindung an der Membran haften, müssen Intrinsic Proteine zusätzlich in einer weiteren Form gebunden sein, die aus einer hydrophoben Interaktion zwischen Membranproteinen und Lipiden bestehen kann. Die Verschiedenen Enzyme der Membran und ihre Interaktion mit PL könnte man als Modell in drei Enzymhauptgruppen unterteilen:

1. Eine Enzymgruppe besteht aus PL-abhängigen Enzymen, die rundherum von PL umgeben sind und mit diesen in einer dynamischen Wechselwirkung stehen. Diese Wechselwirkungen beeinflussen die Enzymaktivität und übernehmen so auf diese Weise eine regulatorische Funktion (z.B. Adenylcyclase).

2. Eine andere Gruppe enthält PL-abhängige Enzyme ebenfalls von PL umgeben; diese PL führen jedoch keine so starke dynamische Änderung herbei und beeinflussen weniger die Enzymaktivitäten (z.B. Na^+K^+ATPase).
3. Die dritte Gruppe umfaßt Membranenzyme, die jedoch nicht von PL beeinflußt werden (z.B. 5'-Nukleotidase, Mg^{++}-ATPase, γ-Glutamyltransferase) (16, 1, 13, 2).

Folgende Enzyme sind von PL abhängig:

I. Phosphatidsäure Phosphatase
II. Na^+K^+ATPase
III. K^+-Nitrophenylphosphatase
IV. Adenylcyclase
V. PCh- Cytididyl-transferase.

Jedoch sind diejenigen PL, die einen hohen Anteil an gesättigten FS haben, weitaus weniger effektiv, als die an ungesättigten FS reicheren PL (16, 1, 13, 2).

Zu I.:
Die Phosphatidsäure Phosphatase eines Multi-Enzym-Systems katalysiert eine Reihe von Reaktionen, die zur Bildung von Triglyceriden oder Lipidvorstufen der PL-Biosynthese führt (17, 18).

Zu II.:
Die Na^+K^+ATPase Aktivität läßt sich durch Gabe von Lezithin steigern; jedoch führte in einigen Experimenten die Lezithin-Zugabe auch zu einer Enzymhemmung. Andere Experimente fordern als effektiven und essentiellen Donator für dieses Enzym PS, während Gabe anderer PL keinen Effekt zeigte. Eine Steigerung der Aktivität ließ sich sogar durch vorherige Hydrolyse zu Phosphatidsäure erzielen. Die chemischen Eigenschaften der PL und ihr Vorkommen in Zellmembranen sprechen für sie als Trägerbestandteile als Carrier-Moleküle für den Transport dieser Ionen (Na^+K^+). Bei dem Ionentransport, verbunden mit der Katalyse

von ATP hält PS die Orientierung des Proteinmoleküls aufrecht. Der Unterschied in den PL als effektive Donatoren für die Enzymaktivität läßt sich so erklären, daß die genaue Struktur des Lipids nicht so wichtig erscheint; sie sind jedoch mehr erforderlich, eine Aggretation der Enzymmoleküle zu verhindern als eine bestimmte Konformation für das Enzym herzustellen (16, 13, 2, 14, 19, 20, 17, 18).

Zu III.:
Die K^+Nitrophenylphosphatase-Aktivität wuchs mit Lezithinzugabe an (2, 19, 20).

Zu IV.:
Die aktive Seite der Adenylcyclase liegt in dem cytoplasmatischen inneren Teil der Membran, d.h. in dem Teil, der quantitativ hauptsächlich aus den Phosphatidylderivaten PS, PÄ und P-In besteht. Auf der äußeren Seite, auf der sich der Hormonrezeptor befindet, dominieren PCh und Sph.
In der Leberzellmembran ließ sich die Adenylcyclase mit P-In und PS aktivieren, während die Herz-Cyclase durch PS eine erhöhte Sensivität für Glukagon erzielte und durch P-In die Empfindlichkeit für Noradrenalin stieg (13, 2, 19, 20).

Zu V.:
Das Enzym PCh-Cytididyl-Transferase ist für seine Aktivität vollständig abhängig von PL. Die aktivsten PL waren Lyso-Derivate und hochgereinigtes Lezithin. Die Ursache, daß PL als Lyso-Derivate eine größere Stimulierung der Aktivität verursachen, läßt die Möglichkeit eines biologischen Kontrollmechanismus vermuten. Die Aktivierung dieser Transferase durch Lyso-PL scheint auf einem positiven Feedback-Mechanismus zur Regulation der Synthese cholinhaltiger PL zu beruhen (21).

B) BISHERIGE ARBEITEN, WELCHE EINE BETEILIGUNG DER ERYTHROZYTEN AN PHOSPHOLIPIDUMSETZUNGEN WAHRSCHEINLICH MACHEN

In der Zellmembran eines Erythrozyten sind die Lipide einer biologischen Membran vollständig enthalten; daher befinden sich in ihr ebenfalls die biochemischen Reaktionen des PL-Metabolismus.
Wie in anderen biologischen Membranen verteilen sich die PL asymmetrisch in dem Bilayer der Ery-Membran. Der äußere Layer der Ery-Membran besteht hauptsächlich aus cholinhaltigem PL. PCh und Sph bilden insgesamt mehr als 50% der PL in den Membranen. PCh repräsentiert eine Mischung molekularer Klassen, die Unterschiede im Sättigungsgrad und in den FS-Kettenbestandteilen aufweisen. PCh zeigt keinen Unterschied im FS-Muster oder in der Positionsverteilung auf beiden Seiten der Membran, d.h. es ist in beiden Membranhälften gleich aufgebaut. An dem inneren Layer werden vorzugsweise PÄ und PS-Aminophosphatide - und in geringen Mengen auch Lezithin gefunden (22, 23, 24, 25, 26, 27).

Für die Erneuerung der PL der Erys gibt es folgende Möglichkeiten:

I. Austausch von PL zwischen Plasmalipoproteinen und Ery-Membranen.
II. Acylierung von Lyso-PL.
III. Enzymkatalysierte Synthese von PÄ zu PCh.
IV. Phosphorylierung von Dicycleriden zu Phosphatidsäure (22, 23, 28, 29).

Bedeutung der Phospholipide für die Ery-Membran:

Nach Synthese der PL an der cytoplasmatischen Seite kommt es zu einem schnellen transmembranen Transfer der Endprodukte an die Außenfläche der Membran. Mittels dieser spontanen Diffusion (Flip-Flop) über den Bilayer wird eine Lipidasymmetrie erlangt. Die spontane Diffusion ist jedoch sehr langsam und benötigt mehrere Stunden. Aufgrund des schnellen Transfers bei der Bildung von PCh kann man zwei Arten transmembraner Bewegung annehmen:

1) Die eine ist enzymbedingt und sehr schnell.
2) Die andere erscheint mittels spontaner Diffusion und ist langsam.

Die transmembrane Migration scheint dabei ein temperaturabhängiger Prozeß zu sein. Bei der Geschwindigkeit der Transposition von PL über die Membranhälften spielt der Sättigungsgrad einen limitierenden Faktor. Die Transposition von zweifach gesättigten Klassen ist langsamer als die der anderen. Der schnellste Transfer vom inneren zum äußeren Layer findet bei mehrfach ungesättigten Klassen statt, d.h. die Transposition ist vom Sättigungsgrad der PL-Klassen abhängig. Die höhere Transpositionsrate mehrfach ungesättigter Klassen von innen nach außen führt dann dazu, daß sie am äußeren Layer der Membran vermehrt erscheinen (22, 23, 29).

Die Transposition der PL über den Bilayer, die Synthese und der PL-Transfer, sowie der Austausch mit Plasma-PL weisen auf den dynamischen Zustand und das Gleichgewicht der PL in der Ery-Membran hin (22, 23, 25).
Aufgrund der Transmethylierung in Zellmembranen bei der Biosynthese der PCh und der schnellen Translokation werden Membranfluidität und Ladung beeinflußt. Eine weitere Bedeutung in

der Membranfluidität spielt das Verhältnis von PCh und Sph. PCh und Sph haben einen Anteil von mehr als 50% der PL in den Membranen. PCh führt zu einer hochfluiden Lipidregion, während Sph eine hohe Rigidität des Membranbilayers herbeiführt. Ein Anstieg des Verhältnisses PCh/Sph bewirkt eine größere Membranfluidität und zugleich ein Absinken der Membranviskosität (z.B. Altern und Arteriosklerose sind gekennzeichnet durch eine substanzielle Abnahme des PCh/Sph und Reifung der Fetus-Lunge durch einen Anstieg der PCh/Sph im pulmonalen Surfactant-Faktor)(25). Auf diese Weise spielen PCh und Sph eine Rolle bei der Regulation der dynamischen Eigenschaften der biologischen Membranen (22, 25).

Phospholipid- und Cholesterin-Interaktionen in Ery-Membranen

In den Lipiddoppelmembranen der Erys finden - wie in den anderen Membranen - ebenfalls Interaktionen von PL mit Chol statt.

Bei normalen und gesunden Erys beträgt das molare Verhältnis des Chol zu PL: C/PL = 0,8 - 1,0. Bei Krankheit allerdings kann dieses Verhältnis C/PL bis zu 1,6 ansteigen (30, 26, 27).

Das Chol ist dabei vorwiegend im äußeren Monolyer der Ery-Membran lokalisiert und hier hauptsächlich an den Ecken der bikonkaven Erys konzentriert. Man vermutet ferner die Existenz verschiedener Chol Pools, die untereinander im Austausch stehen (26, 27).

Biologische Membranen können Chol bis zu einem C/PL von 2,0 bis 3,0 inkorporieren. Andererseits kommt es bei Abwesenheit von Chol im Medium zu einem Chol-Verlust der Erys bis zu 60%. Der Mechanismus des Chol-Transfers in die Ery-Membranen ist

ein Chol-Netto-Transfer, d.h. ohne zusätzliche Einströmung von Lezithin oder Sph. Der normale C/Pl-Wert weist in der Membran auf eine Interaktion von Chol-Molekülen mit FS-Ketten der PL im Verhältnis von 1:1 hin. Bei übermäßiger Chol-Inkorporation wird das verbleibende Chol, das nicht mit PL in Interaktion treten kann, wahrscheinlich in einer besonderen Form eingeschlossen (Nr. 30).

Neben den PL steht auch das Chol der Erys im Austausch mit dem Plasma-Chol. Die Austauschmenge zwischen Erys und Plasma verträgt den dreifachen Cholumsatz, 1,2 g/Tag, bzw. 50% des Ery-Chol, und befindet sich in einem Gleichgewicht. Die Art und Möglichkeit des Austausches werden in verschiedenen Theorien aufgezeigt:

1. Chol wird als wasserlösliches Zwischenprodukt von einem zum anderen Pool gebracht; diese Aggregate sind jedoch zu groß, um eine semipermeable Membran zu durchqueren.
2. Chol bewegt sich durch einen hydrophoben Kollisionskomplex, der bei Kontakt von Chol-tragenden Einheiten entsteht. Dieser Mechanismus fordert einen einfachen Diffusionsprozeß, der zu einem Gleichgewicht der Chol-Konzentration der verschiedenen Pools führen müßte: dieser Zustand tritt jedoch nicht auf. Zum Austausch von Chol zwischen Ery und Plasmalipoproteinen scheint ein Chol-veresterndes Enzym, die LCAT, nötig zu sein.

Eine Formation eines Kollisionskomplexes wäre möglich, da Lipidflächen ohne einen kompletten Proteinüberzug existieren. Bei diesem Kollisionskomplex treten nämlich Oberfläche des äußeren Membran-Layers und Lipoprotein in eine enge Beziehung zueinander; dabei wird das lockerer gebundene Chol schneller als die PL

ausgetauscht. Der Chol-Austausch - es wird nur das Chol und nicht das ganze Lipoprotein ausgetauscht - ist zudem in einer mit mehrfach ungesättigten FS angereicherten Membran viel rascher als in einer mit mehr gesättigten FS ausgestatteten Membran. Denn die Formation eines Kollisionskomplexes mit Chol-reichen Membranen ist eingeschränkt; aufgrund der hohen Chol-Konzentration ist die Membran "dicker" und limitiert daher den Austausch (26).

Die vorhandene Menge an Chol in einer Membran und das Verhältnis zu den PL wirkt sich auf verschiedene Membranfunktionen aus. Die Interaktion von Chol mit PL bildet die Membranviskosität. Steigende C/PL-Verhältnisse führen zu einem Anwachsen der Viskosität. Wenn der äußere Layer der Ery-Membran weniger gesättigte PL als der innere enthält, resultiert daraus eine Bevorzugung des äußeren Layers für Chol; der äußere Layer besitzt dann eine höhere Viskosität als die innere Hälfte der Ery-Membran. Die Hauptfaktoren, die die Fluidität der Membranlipide bestimmen, sind: C/PL, Sättigungsgrad der PL-FS-Ketten und die oben erwähnte PCh /Sph. Änderungen im Chol-Gehalt der Membranen wirken so auf die Fluidität der Membranlipide ein; ein Anstieg der C/PL in der Membran ist mit einem Abschwächen der Membranfluidität verbunden.
Verschiedene Messungen kamen zu dem Ergebnis, daß die äußere Hälfte der Ery-Membran weniger fluid ist als die innere aufgrund der Chol-Anreicherung im äußeren Layer. Änderungen in der Fluidität wirken sich auf die osmotische Fragilität und Glycerolpermeabilität aus: eine teilweise Entfernung von Chol aus der Membran führt zu einer vermehrten osmotischen Fragilität und Glycerolpermeabilität.
Z.B.: eine reine PL-Behandlung der Ery-Membranen führt zu einem Regulationsmangel der Kationendurchlässigkeit, d.h. mas-

siven Na^+-Einstrom, massivem Ausstrom der Acetylcholinesterase und so zu einer Hämolyse (31, 25, 30, 26, 27).

Zu I.: Austausch von PL zwischen Plasmalipoproteinen und Ery-Membranen

Aufgrund verschiedener Experimente ließ sich der Nachweis eines Austauschprozesse von PL zwischen Plasmalipoproteinen und Ery-Membranen nachweisen. Dieser Austausch findet an der Außenseite der Ery-Membran statt. Eine Hauptkomponente der Plasma-PL bildet das PCh. Es zeigt sich kein bevorzugter Austausch von bestimmten PCh-Molekülklassen. Daher spiegelt das PCh der äußeren Membran die molekulare Klasse des Plasma-PCh wider, d.h. die PCh-Molekülklassen sind das Ergebnis eines nicht spezifischen Austausches zwischen Ery-Membran und Plasmalipoproteinen. Neben Lezithin steht auch Lyso-Lezithin im Austausch mit den Ery-Lipiden. Die Austauschgeschwindigkeit ist am höchsten bei den Lyso-PCh, gefolgt von PCh und Sph (Nr. 23, 26, 28, 29).

Zu II.: Acylierung von Lyso-PL

Von den verschiedenen Lipidvorstufen kann in den Ery-Membranen nur Lyso-Lezithin in Lezithin umgewandelt werden. Denn Erys können Lyso-Lezithin nicht aus Lezithin herstellen; die einzige Quelle für dieses Substrat bildet das Plasma. Verglichen mit der Ery-Membran enthält das Plasma eine relativ hohe Konzentration an Lyso-Lezithin. Der Prozeß der Acylierung von Lyso-PL geschieht hauptsächlich an der Innenseite der Membran.
Ein wichtiger Faktor, der die Richtung im Metabolismus des Lyso-Lezithins limitiert, scheint die intrazelluläre ATP-Konzentration zu sein. Bei hohen ATP-Konzentrationen dominiert die Lyso-Lezithin-Acylierungs-Reaktion und bei niedrigen ATP-Mengen die der Lysophospholipase:

a) Das ATP-abhängige, FS-aktivierende Enzym (Acid: Co A Ligase) limitiert die Acylierungsreaktion aufgrund seiner niedrigen Aktivität.

b) Allein ATP und Co A - nur an der Innenseite der Membran lokalisiert - dienen mit dem Substrat der Acid-Co A-Ligase für ihre Reaktion; d.h. daß dieses Enzym ebenfalls an der inneren Oberfläche der Ery-Membran lokalisiert ist.

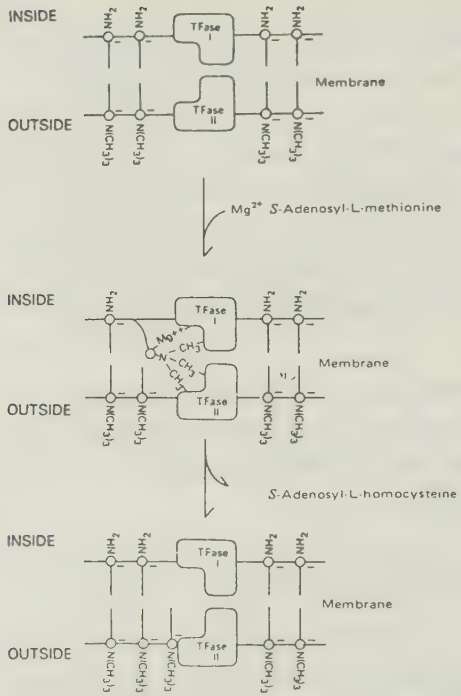
Reife Erys können langkettige FS nicht aus Acetat synthetisieren, da ihnen das Enzym Acetyl-Co A-Carboxylase für die Synthese von Malonyl-Co A fehlt. Aus diesem Grund ist die Hauptquelle der freien FS, die für die Acylierung zu Lezithin benötigt werden, das Blutplasma, obwohl FS in Erys aus Lyso-Lezithin mittels Lyso-Phopholipase herausgeholt werden können. Dazu besitzen die Erys Enzymaktivitäten für die Inkorporation und Aktivierung von langkettigen FS. Bei einer physiologischen ATP-Konzentration um ein µmol/ml wird der maximale Umsatz der freien FS erreicht.

Nach experimentellen Messungen wird jedoch der Anstieg der PCh, die aus der Acylierung ihrer Lyso-Derivate stammen, bei weitem von der Anzahl der mit dem Plasma ausgetauschten PCh überschritten (22, 26, 28, 29).

Zu III.: Enzymkatalysierte Synthese von PÄ zu PCh

PCh wird von zwei Methyltransferasen der Ery-Membran aus PÄ synthetisiert (siehe Schema 3).

Schema 3



Mechanismus einer enzymkatalysierten Phospholipid-Translokation von der inneren zur äußeren Membranhälfte

Das erste Enzym - an der cytoplasmatischen Seite der Membran - benötigt PÄ als Substrat, dazu Mg^{++} und hat eine große Affinität zum Methyldonator S-adenosyl-methionin. Das zweite Enzym - an der äußeren Oberfläche - methyliert Phosphatidyl-N-monomethyl-äthanolamin zu PCh und hat nur eine geringeAffinität zu S-adenosyl-L-methionin. Die asymmetrische Verteilung der beiden Enzyme über

die Membran ermöglicht eine schrittweise Methylierung von PÄ an der Innenseite zu PCh an der Außenseite der Doppelmembran (22).

Zu IV.: Phosphorylierung von Diglyderiden zu Phosphatidsäure:

Eine weitere biochemische Reaktion in den Erys zeigt die Phosphorylierung von Diglyceriden zu Phosphatidsäuren in Anwesenheit von ATP:

1,2 Diglycerid + ATP $\xrightarrow{\text{Enzym}}$ Phosphatidsäure + ADP

Das Enzym Phosphatidsäure-Phosphatase ist in der Ery-Membran lokalisiert und zeigt eine hohe Spezifität für Diglyceride (28).

C) ABHÄNGIGKEITEN DER PL-BILDUNG VON STOFFWECHSELBEDINGUNGEN (ANGEBOT; RESORPTION; LEBERZUSTAND; GALLE-ABFLUSS)

Die PL-Gesamtmenge eines Organismus wird gebildet von der PL-Aufnahme aus der Nahrung und von der PL-Synthese in situ. Die PL-Synthese findet in allen Gewebszellen des Körpers statt. Leber und intestinale Mucusa besitzen dabei die höchste Syntheserate. Einen limitierenden Faktor in der PL-Bildung stellt das Vorhandensein an hochgradig ungesättigte FS mit 20 oder 22 C-Atomen dar. Diese FS werden nicht im Körper synthetisiert und müssen daher mit der Nahrung zugeführt werden.
Der Unterschied in der Bildungsrate der PL ist nicht von den unterschiedlichen Mengen der für die PL-Synthese benötigten spezifischen Enzyme in den Geweben abhängig, sondern von Regulationsmechanismen (vielleicht hormonaler Natur?), die den Prozeß auf einem mehr oder weniger charakteristischen Stand eines jeden Gewebes halten. PL repräsentieren u.a. Zwischenbestandteile in der Absorption, im Transport und im Metabolismus der FS (32, 33, 34, 35).

I. ANGEBOT

Bei Experimenten (bei denen Rattenleberstückchen bei niedriger Proteinzufuhr einen geringen Phosphateinbau in PL, jedoch höheren Cholineinbau in PL als bei normaler Proteinzufuhr zeigten) mit niedriger Proteinzufuhr und Entzug der essentiellen mehrfach ungesättigten FS stellte man folgende Veränderungen fest:

a) beträchtlicher Anstieg der Neutralfette
b) mäßiger Abfall der Total-PL
c) großer Abfall des Lezithins

Die durch verringerte Lezithinbildung induzierte Fettinfiltration der Leber - wie auch durch mangelhaften Abtransport der Leberfette, durch Verringerung der Fettoxidation und Oxidation des Lezithins von fettverwertenden Enzymen (Lezithin kann schneller oxidiert werden, weil von ihm als hydrophilem Substratreservoir leichter als von dem Neutralfett die FS abgespaltet werden können) - konnte durch Zugabe von Cholin zur Diät entweder verhindert oder reversibel gemacht werden; d.h. durch Cholingabe kann ein Abfall des Leberlezithins verhindert werden (32, 34).

II. RESORPTION

Die Resorption von PL setzt ein intaktes Duodenum voraus. Die PL werden in der intestinalen Mucosa aus ihren Vorstufen gebildet. Die Hauptmenge des CDAcGP wird im Darmlumen durch Phospholipase A_2 in CMAcGP gespalten, als solches resorbiert und in den Mucosazellen wieder acyliert: Deacylierungs- und Reacylierungszyklus. Die mehr hydrophilen PL gelangen über den Portalweg zur Leber, die weniger hydrophilen PL über den Lymphweg ins Blut.

Bei Zugabe von Glycerolphosphat oder einer Mischung von Glycerol und Phosphat zur Nahrung wurde eine um mehr als 50% gesteigerte Cholinresorption bei Fettresorption gemessen.
Große Mengen gebildeter hydrolysierter Glyceride während der Fettresorption verbinden sich leicht mit einem relativ stabilen Phosphoryl-Cholin-Radikal; dieser Mechanismus spielt eine große Rolle bei der sehr aktiven Inkorporation von FS in PL bei einem langsamen Umsatz der Phosphatteile.

Chronisch rezidivierende Pankreatitis führt zu erniedrigten Werten von PL, Chol und Triglyceriden im Serum. Die Maldigestion von Nahrungsfett und die verminderte Aufnahme von Fett kommt jedoch als Ursache für die Hypolipoproteinämie nicht in Frage (32, 34).

III. LEBERZUSTAND

Plasma-PL spiegeln den Umsatz der PL in der Leber direkt wider. Eine Änderung der PL findet man erst bei starken Leberschäden, bedingt durch Parasiten, Infektionen, Cirrhosen. Die hohe spezifische Aktivität der PL bei Leberschäden oder bei an Protein verarmter Leber ist Ausdruck einer kompensatorischen Hyperaktivität. Denn die bei geschädigter Leber verbleibende Fähigkeit einer PL-Synthese kann die PL-Bildung auf einem adäquaten Spiegel je nach metabolischen Erfordernissen des Gewebes aufrechterhalten.

Aufgrund der großen funktionellen Reserve der Leber bleibt dieser Spiegel selbst unter ungünstigen Bedingungen erhalten. Entweder ist die PL-Synthese der Leber eine sehr primitive Funktion oder sie besitzt einen großen Vorrang vor anderen metabolischen Prozessen, die ebenfalls Cholin umbauen, denn erst bei großer Beanspruchung zeigt sich eine Alteration (36).

Z.B. Erscheinungsbilder bei Leberschaden:

- besteht eine Fettleber, so ist der Abtransport des Fettdepots gestört, wenn die Umwandlung der Neutralfette in die Transportform, wozu PL benötigt werden, vermindert ist.

- Die idiopathische Hyperlipämie (hepatosplenomegale Lipoidose = Morbus BÜRGER-GRÜTZ) ist gekennzeichnet durch eine massive Erhöhung der Neutralfette und mäßigem Chol- und

PL-Anstieg. Bei Therapie mit essentiellen PL konnte hier keine Wirkung erzielt werden (38).

- Die Lebercirrhose führt in den Erys zu einem Anstieg des molaren C/PL Verhältnisses mit gleichzeitigem Abfall der LCAT-Aktivität (37).

- Eine Cholecystitis führt zur Erhöhung des Lyso-Lezithins in der Gallenblase und in der Leber; es kommt zur vermehrten PL-Ausscheidung. Der erhöhte Lysolezithinwert ist Ausdruck einer Leberfunktionsstörung (32, 33, 39, 40).

IV. GALLEABFLUSS

Die Ursache der Cholestase ist wahrscheinlich eine einfache Retention der Gallenlipide. 20 % der Gallenlipidfraktion stellen die PL dar. Diese sind eine Mischung aus Phosphatidylcholinverbindungen, speziell Palmitinsäure und Linolensäure. Die Hauptinduktoren für die Lipidfraktion sind die Gallensäuren. Diese induzieren über den Cytidindiphosphat-Weg die Lezithinsynthese und verursachen eine lineare Steigerung der Lezithinausscheidung in die Galle; d.h. bei der Sekretion der Gallensäuren in die biliären Canaliculi verursachen sie die Sekretion von Lezithin, Chol und Wasser. Die Galle - eine klare, mizelläre Lösung - enthält so gemischte Mizellen aus Gallensäuren, Lezithin und Chol. Dabei überziehen die Gallensäuren die Mizellen. Bei Cholestase steigen im Plasma die PL - vor allem Lezithin - mehr an als das Chol. Diese PL-Erhöhung im Plasma könnte für die Hyperlipoproteinämie verantwortlich sein: PL erhöhen die Stabilität der Plasmalipoproteinkomplexe und steigern da-

mit die Bindungskapazität für Chol. Das bei Cholestase gebildete abnorme Lipoprotein LP-X zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an PL und freiem Chol und sehr niedrigem Protein-Gehalt aus. Die abnorme Transportart des Chol im LP-X ist jedoch ungeeignet, den endogenen negativen Feedback-Mechanismus der Chol-Synthese auszulösen. Im Gegenteil könnte der hohe PL-Gehalt des LP-X die Ursache einer gesteigerten hepatischen Chol-Synthese sein. (Steuerung der Chol-Synthese über das Apo-B, das nicht im LP-X ist.) Infusionen von PL führen daher zu einer Steigerung der Chol-Synthese und Hypercholesterinämie (41).

Obstruktive Gallenwegserkrankungen mit obstruktivem Ikterus führen zu Erhöhung von PL und freiem Chol, wie auch zum Anstieg des C/PL Verhältnisses in den Ery-Membranen. Im PL-Anstieg ist vornehmlich das Lezithin vermehrt, wobei die Gallensäuren eine Rolle spielen; Lezithin wird zur Produktion löslicher Lipoproteine, hauptsächlich LP-X, benötigt.
LP-X verschmilzt mit der Ery-Membran und führt hier zum Anstieg von Lezithin und Chol in der Membran, v.a. in der inneren ("Kokardenzelltyp").
Kommt es im Rahmen des Ikterus zu einer schweren Leberzellschädigung sinkt der PL-Gehalt im Plasma ab (42, 37, 39, 43).

D) DIE BESCHREIBUNG VON LCAT FÜR DIE UMSETZUNG VON CHOLESTERIN

Das Blutplasma enthält ein Enzym - die Lezithin-Cholesterin-Acyl-Transferase = LCAT -, das von der Leber synthetisiert und ins Plasma sezerniert wird. Im Plasma zirkuliert es als HDL-Komplex und wirkt direkt auf das kleinere HDL ein (HDL klein = HDL_3) (44).

Zunächst wird die direkte Wirkung der LCAT beschrieben. Die LCAT katalysiert den FS Transfer von der C:2 Postion des PCh auf unverestertes Chol und fördert so die Bildung von Lyso-PCh und Chol-Ester, die reich an essentiellen FS sind. Der größte Teil der dabei gebildeten Lyso-PCh wird entweder zu Glyceryl-PCH umgewandelt oder auf Albumin transferiert. Die Chol-Veresterung wird begleitet von einem nahezu äquimolaren Abfall der P-Ch-Konzentration, bzw. äquimolaren Anstieg von Lyso-PCh (47). Da jedoch auch gesättigte FS transferiert werden, kommt es nicht zu einem äquimolaren Anstieg von Lyso-PCh. Mit Hilfe eines Übertragungsmechanismus der LCAT, der zweifachgesättigte PCh erzeugt, können diese Produkte ebenfalls als Substrat der Chol-Veresterungsreaktion dienen. Somit besitzt die LCAT eine doppelte Aktivität, denn die eine vermag PCh zu bilden, die als Substrat für die Reaktion benötigt werden und die andere führt zur Veresterung des Chol (47).
Die LCAT reagiert bevorzugt mit HDL, wenig mit LDL und gar nicht mit VLDL. Unter den HDL-Fraktionen kommt es nur zu einer Reaktion mit HDL_3, einer Unterfraktion, die kleinere Lipoproteine und Apo A-I und Apo A-II enthält, und nicht mit HDL_2, eine andere Unterfraktion mit großen Lipoproteinen, das reich an Arginin ist. Das Apo A-I stimuliert größtenteils die LCAT. Die optimale Aktivität zeigt sich bei einem Verhältnis PCh/UC = 3:1, das es in dieser Höhe nur bei HDL gibt (45, 46, 47, 48).

Daneben werden bei der LCAT-Reaktion folgende indirekte Wirkungen beobachtet.
Die LCAT-Reaktion auf HDL wirkt auch auf die Zusammensetzung von Lipoproteinen, Apolipoproteinen und Lipiden, indem es indirekt das unveresterte Chol und Lezithin vermindert. Unverestertes Chol wird sehr rasch unter den Plasmalipoproteinen ausgetauscht, so daß es zu einem Lipidgleichgewicht unter ihnen kommt. Auf nichtenzymatischem Weg wird unverestertes Chol auf HDL transferiert und von LCAT enzymatisch verestert, gefolgt von einer nichtenzymatischen Wiederverteilung von unverestertem Chol von anderen Lipoproteinen auf HDL (44, 47).

Der Austausch von PCh und unverestertem Chol findet nicht nur unter den Plasmalipoproteinen statt, sondern auch zwischen Plasmalipoproteinen und Zellen, sowie auch Ery-Membranen.

Die LCAT-Reaktion wirkt somit indirekt auch auf den Lipidgehalt der Zelloberflächen ein; denn wenn Erys mit Plasma, das LCAT enthält, inkubiert werden, kommt es zu einem Chol-Verlust der Ery-Membranen: Die Veresterung von Chol durch LCAT führt zu einer Neuverteilung von unverestertem Chol zwischen den Ery-Membranen und der Lipoproteine. Ist das Plasma nun reich an Chol, steigt der Gehalt an unverestertem Chol der Erys. Im Gegenteil zum Chol-Gehalt steigt jedoch die Menge des totalen PL in den Erys nur unmerklich an; dabei kommt es zu einem Anstieg von Lezithin, doch auf Kosten des Sph und PÄ (46, 47).

Es gibt zwei Enzyme, die den Gehalt an verestertem Chol intra- und extracellulär kontrollieren:

1) In der intestinalen Mucosa die: Acyl-CoA-Cholesteryl-Acyl-Transferase (ACAT)
2) Im Plasma die Lezithin-Cholesterin-Acyl-Transferase (LCAT) (46, 47).

Zu 1)
Diese ACAT in der Mucosazelle des Intestinums limitiert den Gehalt an unverestertem Chol in den neugebildeten Chylomikronen (46).

Zu 2)
Die LCAT-Reaktion integriert zwei Hauptwege des Plasmalipidmetabolismus und kontrolliert damit die Menge unveresterten Chol in Plasmalipoproteinen und Zellmembranen (46).

- Sie bestimmt auch den Apolipoproteingehalt der Plasmalipoproteine. Die Apoproteine unterscheiden sich in:
  Apo A-I
  Apo A-II
  Apo B
  Apo C
  Apo E

und sind in unterschiedlichen Konzentrationen in den Lipoproteinen vorhanden; sie übernehmen dabei verschiedene Funktionen, die alle von der LCAT kontrolliert werden (44).

Die zwei Hauptwege des Plasmolipoproteinmetabolismus, bei denen die LCAT-Reaktion mitwirkt, sind der Triglycerid-Transport und der LDL-Pathway (46).

Der Triglycerid-Transport kann, wie folgt, beschrieben werden:
Intestinale Mucosa und die Leber bilden eine Quelle für die Sekretion von Chol und Triglyceriden.
Die intestinale Mucosa sezerniert das Chol und die Triglyceride in Form von Chylomikronen oder VLDL, d.h. Lipoproteinen. Diese dienen somit als Transportmittel für die Lipide. Im Aufbau zeigen sie als "Core" Triglyceride, die von unverestertem Chol und Lezithin als Oberflächenbildner umgeben sind. Die Sekretion der Chylomikronen erfolgt in den Ductus Thoracicus. In der Mucosa-

Zelle ist ihr Gehalt an unverestertem Chol relativ geringer als der der PL; weiter enthalten sie Apo B und Apo A-I, jedoch kein Apo C. Beim Eintritt ins Plasma ändert sich sofort ihre Zusammensetzung: Sie nehmen unverestertes Chol auf, verlieren PL und ändern ihren Apo-Protein-Gehalt.
Sie nehmen Apo C vom HDL auf, verlieren Apo A-I und unterziehen sich noch weiteren Änderungen im Apoproteingehalt. Diese Änderungen vollziehen sich an der Lipoproteinoberfläche. Entscheidend ist die Aufnahme von Apo C-II. Dieses Apo-Protein aktiviert die Hydrolyse der Triglyceride von Chylomikronen (und VLDL) durch die Lipoproteinlipase (LPL). Es werden nun triglyceridarme Lipoproteinreste hergestellt, die entweder im Plasma zirkulieren, wo es zu einer nichtenzymatischen Wiederverteilung dieser Lipide unter den anderen Lipoproteinen und Zellmembranen kommt, und auf LDL übergehen oder von der Leber aufgenommen werden.
Indem die Apo A, die mit ungesättigten PCh eine bevorzugte Wechselwirkung zeigen und so durch die Enzym-Apoproteinkomplexbildung die Enzym-Substrat-Komplexbildung ermöglichen können, von den Oberflächen der Chylomikronen die LCAT-Reaktion aktivieren, kommt es enzymatisch durch das relative Übermaß an unverestertem Chol und Lezithin an der Oberfläche zur Reduktion des unveresterten Chol und Lezithins in Chol-Ester und Lyso-Lezithin, sowie nichtenzymatisch zum Transfer der Lipide unter den Lipoproteinen. Diese LCAT-Reaktion erleichtert wiederum die weitere Aktion von LPL. Vermehrt sich die Menge und der Transport der Triglyceride steigt auch die Rate der LCAT-Reaktion (46, 47, 48).

Der andere Hauptweg ist der LDL-Pathway:
Während der Triglyceridweg die periphere Nutzung oder Lagerung von Triglycerid-FS dient, fördert der LDL-Pathway die Nutzung von LDL-Chol (46).

Eine Menge der Chol-Ester, die bei der LCAT-Reaktion gebildet wurden, transferieren auf Lipo-Proteine wie LDL, die Apo B enthalten. Die LDL-Formation unterliegt der Kontrolle der LCAT, da diese Apo B enthaltendes Material auf LDL überführt. Zirkulierendes LDL wird von Rezeptoren für Apo B der Zellmembranen erkannt. Das Chol-Ester wird von den Zellen durch Endozytose aufgenommen und in sekundären Lysosomen hydrolysiert. Nach der Hydrolyse von LDL-Chol-Estern wird unverestertes Chol für die Zelle zur Nutzung verfügbar (46, 47).

Die LCAT reguliert nun den Lipid-Gehalt der Zellmembranen. Neben der Aufnahme von Chol-Ester können die meisten peripheren Zellen Chol ebenfalls synthetisieren, jedoch nicht abbauen (47).
LCAT fördert hier regulativ den Austritt von Chol aus den Zellen und aus den Erys. Das unveresterte Chol wird auf HDL durch LCAT verestert, das meiste der neugebildeten Chol-Ester wird auf VLDL, HDL oder LDL transferiert, so daß dieses Chol wieder zur Aufnahme durch einen Rezeptoren vermittelten Prozeß in die Zellen gelangt und somit eine Wiederverwertung des Chol erlaubt. Die LCAT kann hier ein Teil des Mechanismus für eine Wiederverwertung von zellulären und Plasma Chol sein; so trägt es durch eine Neuverteilung von unverestertem Chol zur Stabilisierung des Chol-Gehalts der peripheren Zellen bei. Es kontrolliert aber auch den Lipid-Gehalt der Zellen, um es im Gleichgewicht mit dem HDL zu halten (46, 45, 47).

Eine weitere wichtige Aufgabe des LDL-Pathway ist der Transport von essentiellen FS zu den Zellen mit Rezeptoren für Apo B, Apo E und HDL. Das HDL enthält hauptsächlich Linolsäure. Da die Chol-Ester, nach der Veresterung durch LCAT, auf VLDL, HDL und LDL transferieren, werden diese Chol-Linoleate (Chol-Ester mit essentiellen FS) den Zellen verfügbar (48).

Die LCAT-Reaktion kontrolliert die Verteilung und den Gehalt von Apo-Proteinen und verursacht auch hier ein Wiederverwertungsphänomen.
HDL-Chol-Ester stehen im Austausch mit VLDL-Triglyceriden, gefördert von der LCAT-Reaktion. Da jedoch der Transfer von HDL-Chol-Ester auf VLDL viel größer als der von VLDL-Triglyceriden auf HDL ist, bedeutet dies mehr als einen einfachen Austausch: das Apo E fungiert hier möglicherweise als Carrier für die Chol-Ester auf VLDL. Dieses Apo-Protein ist ein großes Partikel der HDL-Fraktion und ist reich an Arginin. Dieses argininreiche Apo-Protein könnte in den physiologisch signifikanten Austausch von C-Apolipoproteinen zwischen HDL und VLDL einbezogen sein.
Beim Transfer von Apo E auf VLDL kommt es zu einem Austausch mit Apo C, das dabei auf HDL zurückgeht (47).

Neben der Aktivierung der Hydrolyse der Triglyceride durch Apo C-II verbindet sich Apo C-II und Apo C-III mit Lezithin. Diese Verbindung führt zu einer Entfernung von Lezithin von der Chylomikronenoberfläche. Die relativ größere Menge an verbleibenden unverestertem Chol kann nun leicht von Apo C getrennt werden. Die Chylomikronenreste spalten die Apo-C-Komponenten, die sich anschließend wieder mit HDL rekombinieren. Dieser Transfer von Apo C führt zu einer signifikanten Wiederverwertung dieser Apo-Proteine (45, 46).

Die Chol-Ester werden aus der Zirkulation entweder durch Mechanismen der Leber, die von der Erkennung und Entfernung von Apo E abhängt, oder durch den LDL-Pathway entfernt. Die größte Menge der Chol-Ester wird jedoch durch den Apo-E-Pathway eliminiert (46, 47).

Die LCAT-Reaktion limitiert die Anzahl der PCh und unverestertem Chol in Plasmalipoproteinen und Zellmembranen mittels Bin-

dungsstellen. Sie hält den Stand des unveresterten Chol niedrig, indem sie die Anzahl der potentiellen Bindungsstellen für Oberflächengebiet hochhält. Diese Bindungsstellen bewirken eine Pufferaktion für die Veränderungen, die durch die LPL-Reaktion hervorgerufen werden. Denn die Oberflächenlipide verteilen sich auf die freigewordenen Bindungsstellen, an denen die LCAT-Reaktion einwirkt, um so eine kontinuierliche Aktion der LCAT zu gewährleisten. Diese Wiederverteilung der Oberflächenlipide an den Bindungsstellen geschieht relativ schnell und führt damit auch zu einer raschen Umsatzzahl von Triglyceriden (47).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Rolle und Funktion der LCAT in einen komplexen Mechanismus durch direkte Reaktionen und indirekte Wirkungen in der Veresterung des Chol der Lipo-Proteine und der Zellen sowie in der Verteilung der veresterten Chol unter Lipoproteinen und Erys liegt; indem alle Mechanismen im Gleichgewicht gehalten werden, kann die LCAT unverestertes Chol vor einer Akkumulation im Plasma schützen (44, 45, 46, 47, 48).

III. FRAGESTELLUNG

A) a Unterscheiden sich Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung (Hypercholesterinämie; Hypertriglyceridämie; Hypercholesterinämie unter Berücksichtigung des Triglyceridspiegels) hinsichtlich der Phospholipidfreisetzung eindeutig, wenn Citratblut mit essentiellen Phospholipiden in vitro inkubiert wird und

A) b Unterscheiden sich Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung (Hypercholesterinämie) hinsichtlich der PL-Freisetzung eindeutig, wenn Liqueminblut mit EPL in vitro inkubiert wird?

B) Bestehen auffallende Unterschiede des Ergebnisses

a in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

b in Abhängigkeit von der essentiellen Phospholipidzugabe

c in Abhängigkeit von dem Medium (Plasma, bzw. Blutkuchen)

C) Gibt es klinische Beispiele, daß excessiv hohe oder niedrige Umsetzungsraten für Phospholipide nach Zugabe von essentiellen Phospholipiden in vitro nachgewiesen werden konnten?

IV. PROBANDENGUT

Das Probandengut bestand aus 141 Patienten, deren Cholesterinwerte im Blut gemessen werden sollten. Als gerinnungshemmendes Mittel wurden bei 91 entnommenen Blutproben 2 ml Citrat auf 8 ml Blut zugesetzt, bei 50 anderen 1 ml Liquemin auf 9 ml Blut. Ein Teil der Patienten kam zur ambulanten internistischen Behandlung und der andere Teil der Patienten befand sich unter stationärer Kontrolle (Thoraxchirurgie).

Untersuchungsverfahren

Bei der Blutabnahme wurde als gerinnungshemmendes Mittel Natriumcitrat oder Liquemin verwendet.

1. Untersuchung mit Na-Citrat:
   Nachdem 2 ml Na-Citrat in die Spritze aufgezogen worden waren, wurden 8 ml venöses Blut dem Probanden entnommen und vorsichtig geschwenkt.
2. Untersuchung mit Liquemin:
   Nachdem 1 ml Liquemin in die Spritze aufgezogen worden war, wurden 9 ml venöses Blut dem Probanden entnommen und vorsichtig geschwenkt.
3. Zugabe von EPL[1] ("essentielle" Phospholipide):
   2 x 3 ml Blut werden dem Röhrchen entnommen und mit jeweils 0,03 ml EPL, d.h. 0,01 ml EPL/ml Blut, vermischt.
   Die EPL-Substanz wurde hier in Form der i.v.-Injektionslösung verwendet.
   1 Amp. zu 5 ml enthält: "essentielle" Phospholipide = EPL-Substanz (Cholinphosphorsäurediglyceridester natürlicher Herkunft mit überwiegend ungesättigten Fettsäuren,

1 Essentiale flüssig, Fa. Nattermann, Köln

speziell Linolsäure, ca. 70%, Linolen- und Ölsäure) 250 mg, Pyridoxinhydrochlorid ($VitB_6$) 2,5 mg, Cyanocobalamin ($VitB_{12}$) 10 g, Natrium-D-panthothenat 1,5 mg, Nicotinamid 25 mg.
Der Rest des Blutes wird aufgehoben, um später mitgemessen zu werden.
3 ml Blut, versetzt mit 0,03 ml EPL werden 1 Stunde bei 37° C inkubiert.
3 ml Blut, versetzt mit 0,03 ml EPL werden 2 Stunden bei 37° C inkubiert.

Phospholipidbestimmungsmethode

Reagenzien

1. Äthanol 95% p.A. (p.A. = pro Analyse)
2. Azeton p.A.
3. Petroläther p.A.
4. Diäthyläther p.A.
5. Silberchromat-Schwefelsäure nach NICLOUX
6. Gesättigte, alkoholische Magnesiumchlorid-Lösung
7. $^n/_{10}$-Kaliumbichromat-Lösung
8. $^n/_{100}$ Natriumthiosulfat-Lösung
9. Diphenylamin 0,7 g in 100 ml, gelöst in konzentrierter Schwefelsäure-Lösung, 100 ml.

Ausführung

0,5 cm^3 des Serums, bzw. des Blutkuchens kommen unter gutem Schütteln zu 7,5 cm^3 Alkohol-Äther (1:1). Man kocht auf, kühlt, füllt auf 10 cm^3 Alkohol-Äther auf und filtriert. Isolierung der Phospholipide:
Das Filtrat wird in einem Becherglas zur Trocknung verdampft. Der Rückstand wird dreimal mit 1 cm^3 siedenem Petroläther aus-

gezogen und dieser in einem 15 cm^3-Zentrifugenglas gesammelt. Es sollen insgesamt ca. 10 cm^3 sein. Die Trübungen werden abzentrifugiert, der Petroläther quantitativ in ein zweites Zentrifugenglas gebracht und das Lösungsmittel auf ca. 2 cm^3 im Trockenschrank eingeengt. Danach wird abgekühlt. Hierzu kommen 7 cm^3 Azeton und 3 Tropfen Magnesiumchlorid-Lösung. Es wird gut gemischt und 15 min. stehengelassen. Der Niederschlag wird durch Zentrifugieren abgetrennt, wobei die überstehende Flüssigkeit wasserklar sein soll. Der Überstand an Azeton wird verworfen. Der Niederschlag wird noch einmal mit Azeton gewaschen, und dann in 10 ml feuchtem, peroxydfreiem Äther gelöst. Die klare ätherische Lösung bringt man in eine Porzellanschale, entfernt Äther und Feuchtigkeit durch einen warmen Luftstrom, läßt die Schalen abkühlen und setzt dann 0,5 cm^3 Silgerreagenz und 0,3 cm^3 Bichromat zu; als Indikator für die Titration mit Natrium-Thiosulfat-Lösung setzt man Diphenylamin 0,7 % in konzentrierter Schwefelsäure-Lösung zu, bis die blaue Farbe (mitternachtsblau) verschwindet.

Zur Beobachtung: Vor der Titration muß die Lösung abgekühlt sein, da die Farbreaktion nur in der Kälte stattfindet.

Die Fettoxydation verläuft nach BLOOR (49) nach der Gleichung:

$$2C_{42}H_{84}O_9NP_+ 121\ O_2 = 84\ CO_2 + 84\ H_2O + 2H_3PO_4 + N_2.$$

Vor dem Errechnen des Phospholipid-Gehaltes stellt man eine Eichkurve auf:
von 0,05 ml, 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,7 ml und 1 ml EPL wird der Gehalt an PL bestimmt; anhand der Ergebnisse des PL-Wertes wurde eine Eichkurve angelegt, die PL-Äquivalente aus der Eichkurve abgelesen. In 1 ml EPL sind 50 PL enthalten.

Berechnungsbeispiel:

Abk.: $Na_2\ S_2O_3$ = Natriumthiosulfat

Der Leerwert (LW) besteht aus 0,5 ml H_2O und der Standardwert (SW) besteht aus 1 ml EPL statt Serum; beide Werte laufen bei den jeweiligen Versuchen nach BLOOR (49) mit. Der Standardwert dient als Kontrollwert.

zum Beispiel:
LW = 1,30 ml Verbrauch an $Na_2\ S_2O_3$
SW = 0,81 ml Verbrauch an $Na_2S_2O_3$

Verbrauch an $Na_2S_2O_3$:
im Serum: 0,88 ml
im Blutkuchen: 0,80 ml
Die Differenz zwischen LW und Blutkuchen beträgt nach Abzug 0,50 ml und im Serum 0,42 ml. Diese Werte entsprechen einem tatsächlichen Verbrauch an n/100 $Na_2S_2O_3$ (entsprechend der Eichkurve) für Serum = 77 PL und für Blutkuchen 100 PL. Nach der Berücksichtigung der Verdünnung mit Citrat erhält man für den Serumwert 84 PL und für den Blutkuchenwert 110 PL.

Art der Auswertung

I. Ermittlung der Werte

Die Durchschnittswerte des Phospholipid-Gehaltes im Plasma und im Blutkuchen errechneten sich als arithmetischer Mittelwert $\bar{x}$ mit folgender Formel:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot (x_1 + x_2 + \ldots x_1 + \ldots x_n) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} x_1$$

Die Stichproben Standardabweichung s wurde mit folgender Formel ermittelt:

$$s = s^2 \text{ bzw. } SQ = n x_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^{n} x_i \right)^2$$

Der prozentuale Anstieg wurde so errechnet:

$$\left(\frac{x-y}{y} \cdot 100 \right) (\%)$$

II. Gruppeneinteilung

Bei Na-Citrat-Blut und Liquemin-Blut wurden 3 Gruppen in Abhängigkeit des Cholesterin-Spiegels getroffen:
Chol < 150 mg%, Chol 150-280 mg%, Chol > 280 mg%. Der Cholesterinwert bis 280 mg% wurde als normal angesehen. Die Cholesterinwerte größer als 280 mg% dürfen als pathologisch angenommen werden.
Weitere Gruppeneinteilungen wurden bei Na-Citrat-Blut vorgenommen:

a) Triglycerid < 170 mg% (Normalbereich)
Triglycerid > 170 mg% (pathologischer Bereich)

b) Chol < 280 mg% + Trig < 170 mg%
Chol < 280 mg% + Trig > 170 mg%
Chol > 280 mg% + Trig < 170 mg%
Chol > 280 mg% + Trig > 170 mg%

III. Zeiteinteilung

Der Phospholipid-Gehalt wurde:

1. gleich nach der Blutabnahme bestimmt (t_o)
2. nach einer Stunde Inkubation (1 h)
3. nach zwei Stunden Inkubation (2 h).

V. ERGEBNISSE DER VERSUCHE

In den folgenden Tabellen sind die Durchschnittswerte des PL-Gehaltes unter Berücksichtigung des Chol- bzw. Triglycerid-Spiegels im Vergleich von Serum und Blutkuchen sowie in Abhängigkeit der Zeit und der Gabe von EPL (= "essentielle" Phospholipide) dargestellt.
Zum Zeitpunkt t_o wurde der vorhandene PL-Gehalt gemessen; nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut wurde der PL-Gehalt nach einer Stunde (1 h) und nach zwei Stunden (2 h) Inkubation bei 37°C bestimmt. Ein Versuch wurde ohne EPL-Gabe vorgenommen; es fand ebenfalls eine Inkubation von einer Stunde und zwei Stunden statt.

Abkürzungen:

$\bar{x}$	=	mittlerer PL-Gehalt in mg%
s	=	Standardabweichung
n	=	Anzahl der Versuche
t_o	=	Anfangswert
1 h	=	Einstundenwert
2 h	=	Zweistundenwert
Chol	=	Cholesterin
Trig	=	Triglycerid

1. Ergebnisse des Versuches mit Na-Citrat-Blut

Bei diesem Versuch wurdeohne EPL-Gabe inkubiert und der PL-Gehalt gemessen.

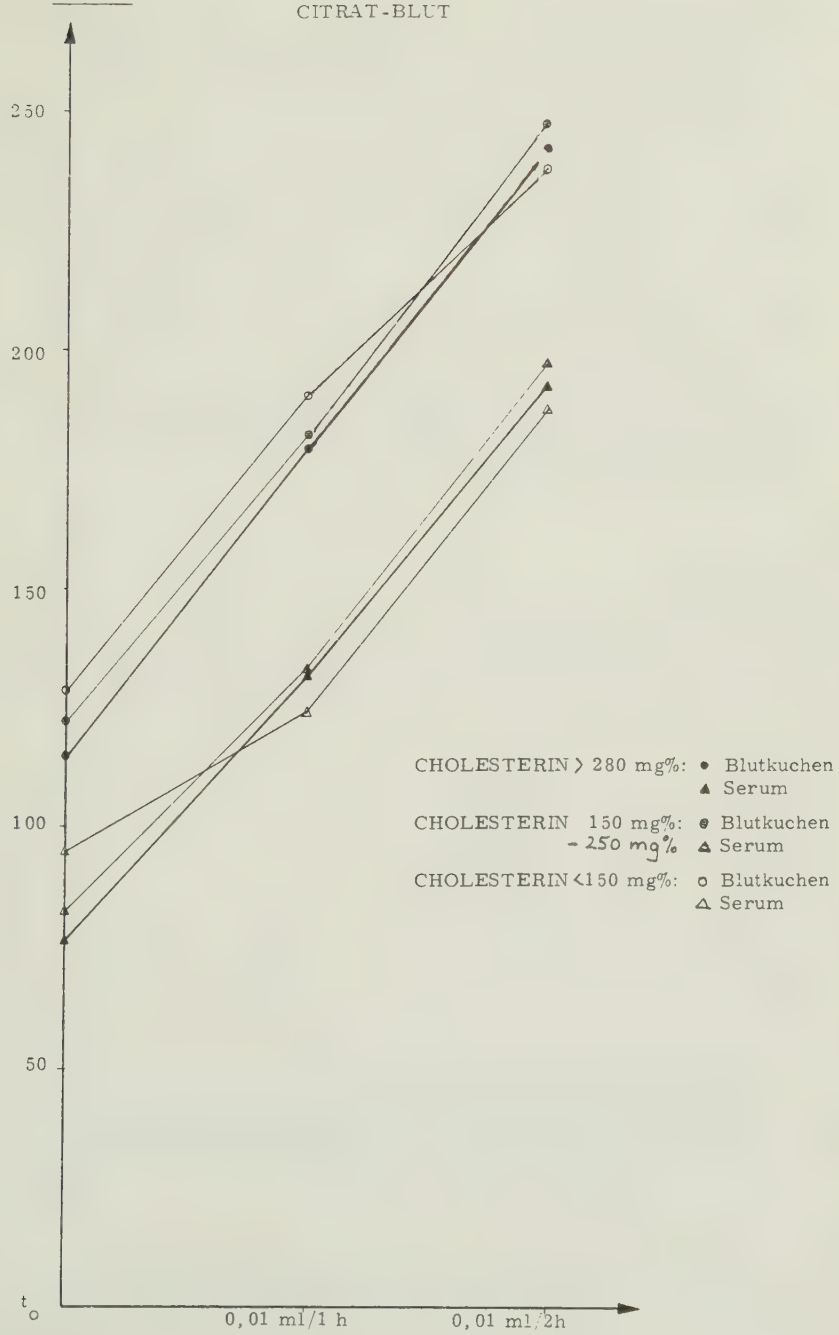
Tabelle:

S	B	1 ha		2 ha	
84	177	100	177	108	184
108	144	93	158	93	151
60	115	66	108	72	122

Es zeigt sich ein gleichbleibender PL-Gehalt, der sich in Abhängigkeit der Zeit nicht ändert.

Abb. 1

CITRAT-BLUT



Legende zu Abbildung 1:

Abbildung 1 zeigt die PL-Gehalte im Blutkuchen und im Serum in Abhängigkeit der Zeit

(t_o = PL-Gehalt ohne Gabe von EPL und ohne Inkubation
1h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 1 Stunde Inkubation
2h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 2 Stunden Inkubation)

und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut unter Berücksichtigung des Chol-Spiegels. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Citrat zugesetzt.

2. Ergebnisse aus Versuchen mit Na-Citrat-Blut in Abhängigkeit des Cholesterin-Spiegels

Es erfolgte eine Einteilung in 3 Chol-Gruppen:
Chol < 150 mg%, Chol 150-280 mg%, Chol > 280 mg%

Tabelle 1 (dazu Abbildung 1)

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1 h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	95,5	128,8	125,0	191,6	187,6	239,0
s ±	19,3	23,1	33,4	26,4	29,2	30,5

n = 5

Die Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol < 150 mg%: es zeigt sich eine Dosis- und Zeit-abhängige Zunahme des PL-Gehaltes. Der Blutkuchen übertrifft im PL-Gehalt das Serum.

Tabelle 2

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1h		0,01 ml EPL/ml 2h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	84,0	122,2	133,6	182,6	198,2	248,1
s ±	32,1	39,9	44,5	48,7	51,9	46,0

n = 68

Die Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol 150-280 mg%: es zeigt sich wiederum eine Dosis- und Zeit-abhängige Zunahme des PL-Gehaltes. Der Blutkuchen übertrifft im PL-Gehalt das Serum.

Tabelle 3

	ohne EPL		0,01 ml EPL/ml		0,01 ml EPL/ml	
	t_o		1 h		2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	77,4	114,5	132,7	180,3	180,6	243,1
s ±	40,0	51,2	49,4	55,8	53,8	48,9

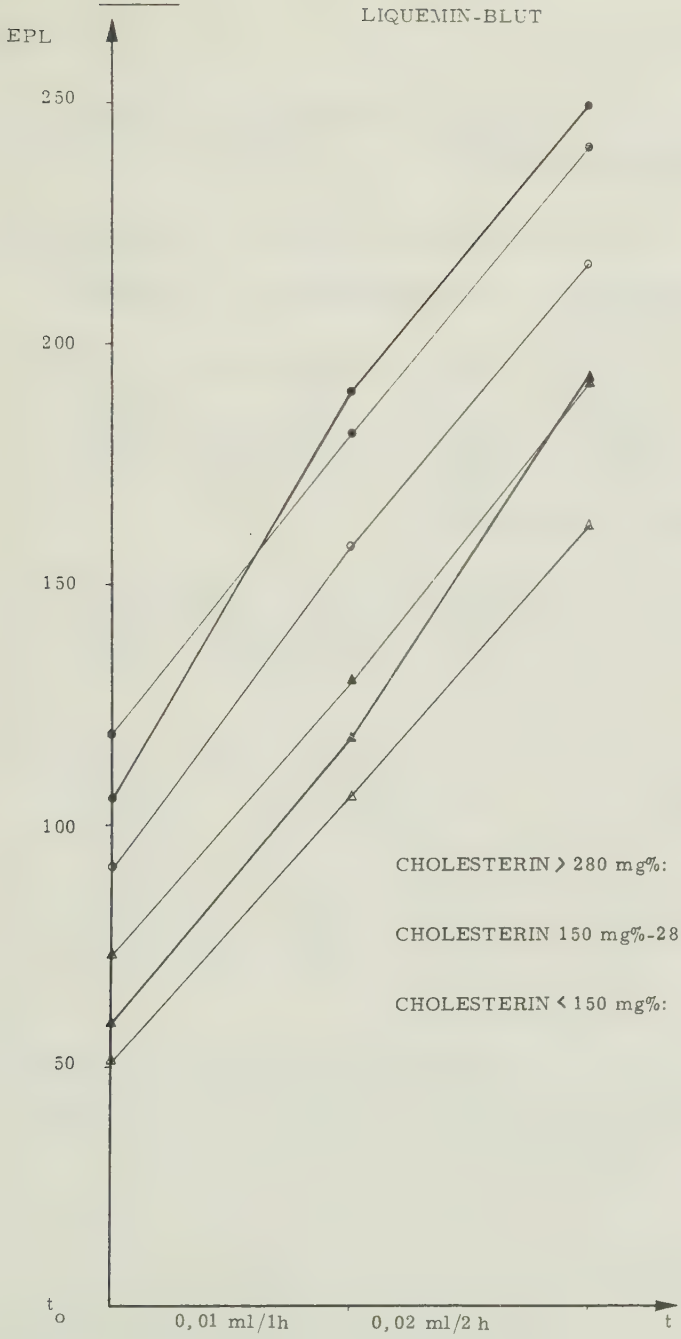
n = 18

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol > 280 mg%: es zeigt sich wiederum eine Dosis- und Zeitabhängige Zunahme des PL-Gehaltes. Der Blutkuchen übertrifft im PL-Gehalt das Serum.

Zusammenfassung der Ergebnisse dieser drei Versuche:

Aus den drei Tabellen ist ersichtlich, daß der PL-Gehalt in Abhängigkeit der Zeit und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut im Blutkuchen und im Serum ansteigt. Der Blutkuchen besitzt immer einen höheren PL-Gehalt als das Serum.
Die PL-Ausgangswerte haben bei der Gruppe Chol > 280 mg% den geringsten Phospholipid-Gehalt. Aufgrund der höchsten Steigungsrate nach einer Stunde (vergleiche Tabelle A) erreicht sie jedoch einen PL-Gehalt, der sich der Gruppe Chol 150-280 mg% angleicht. Der Anstieg nach der zweiten Stunde ist bei allen drei Gruppen nicht mehr so hoch wie nach der ersten Stunde. Die höchste Zunahme nach zwei Stunden zeigt die Gruppe Chol > 280 mg%, die Gruppe Chol 150-280 mg% hat die mittleren Werte und die Gruppe Chol < 150 mg% weist die geringste PL-Vermehrung auf, hat jedoch wegen ihrer höchsten Anfangswerte nach zwei Stunden Inkubation ähnliche Werte im PL-Gehalt wie die beiden anderen Gruppen.

Abb. 2


LIQUEMIN-BLUT
EPL
250
200
150
100
50
t_o
0,01 ml/1h
0,02 ml/2 h
t
CHOLESTERIN > 280 mg%:
Blutkuchen
Serum
CHOLESTERIN 150 mg%-280 mg%:
Blutkuchen
Serum
CHOLESTERIN < 150 mg%:
Blutkuchen
Serum

Legende zu Abbildung 2:

Abbildung 2 zeigt die PL-Gehalte im Blutkuchen und im Serum in Abhängigkeit der Zeit.

(t_o = PL-Gehalt ohne Gabe von EPL und ohne Inkubation

1h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 1 Stunde Inkubation

2h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 2 Stunden Inkubation)

und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut unter Berücksichtigung des Chol-Spiegels. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Liquemin zugesetzt.

3. Ergebnisse aus Versuchen mit Liquemin-Blut

Es erfolgte eine Einteilung in 3 Chol-Gruppen:
Chol < 150 mg%, Chol 150-280 mg%, Chol > 280 mg% (dazu Abb. 2)

Tabelle 1

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	50,8	91,3	105,6	157,5	163,3	216,8
$s\pm$	17,6	24,6	26,5	22,1	26,1	21,8

n = 4

Die Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol < 150 mg%: es zeigt sich eine Dosis- und Zeit-abhängige Zunahme des PL-Gehaltes. Der Blutkuchen übertrifft im PL-Gehalt das Serum.

Tabelle 2

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1 h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	72,5	119,5	129,5	181,2	191,9	240,5
$s\pm$	29,7	39,5	40,2	49,1	46,0	49,9

n = 41

Die Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol 150-280 mg%: es zeigt sich eine Dosis- und Zeit-abhängige Zunahme des PL-Gehaltes. Der Blutkuchen übertrifft im PL-Gehalt das Serum.

Tabelle 3

	ohne EPL t_0		0,01 ml EPL/ml 1 h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	58,8	105,0	117,6	190,0	193,0	250,4
$s\pm$	20,4	28,3	29,5	27,2	27,5	21,0

n = 5

Die Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Chol > 280 mg%.

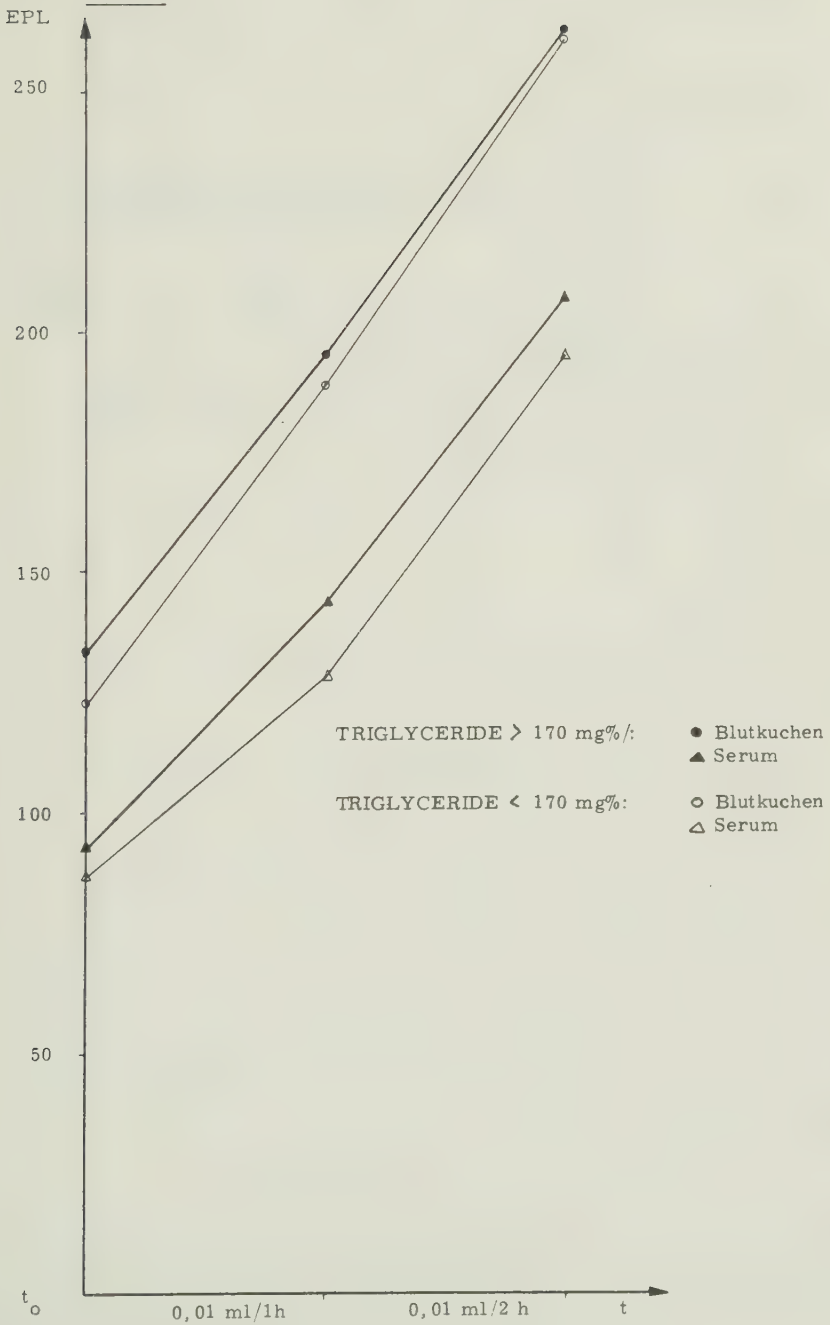
Zusammenfassung der Ergebnisse dieser drei Versuche:

Aus den drei Tabellen ist ersichtlich, daß der PL-Gehalt in Abhängigkeit der Zeit und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut im Blutkuchen und im Serum ansteigt. Der Blutkuchen besitzt immer einen höheren PL-Gehalt als das Serum.

Die niedrigsten Anfangswerte im PL-Gehalt zeigt hier die Gruppe Chol < 150 mg%; auch nach einer Stunde und zwei Stunden Inkubation behält diese Gruppe die geringsten PL-Werte, trotz einer höheren Zunahmerate (vergleiche Tabelle A) als Gruppe Chol 150 - 280 mg%. Die höchsten PL-Werte der beiden ersten Zeiten t_0 und 1 h besitzt Gruppe Chol 150 - 280 mg%, um in dem Zweistundenwert Gruppe Chol > 280 mg% übertroffen zu werden, die fast allen Werten die höchste Zunahmerate zeigt.

CITRAT-BLUT

Abb. 3



Legende zu Abbildung 3:

Abbildung 3 zeigt die PL-Gehalte im Blutkuchen und im Serum in Abhängigkeit der Zeit

(t_o = PL-Gehalt ohne Gabe von EPL und ohne Inkubation
1 h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 1 Stunde Inkubation
2 h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 2 Stunden Inkubation)

und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut unter Berücksichtigung des Chol-Spiegels. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Citrat zugesetzt.

4. Ergebnisse des Versuches mit Na-Citrat-Blut in Abhängigkeit des Triglycerid-Spiegels

Es erfolgte eine Einteilung in zwei Triglycerid-Gruppen:
Trig < 170 mg%, Trig > 170 mg%
(dazu Abb. 3).

Tabelle 1

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1 h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	86,6	123,5	138,0	188,8	195,4	261,2
$s\pm$	38,6	46,6	52,5	59,8	56,4	14,8

n = 62

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Trig < 170 mg%.

Tabelle 2

	ohne EPL t_o		0,01 ml EPL/ml 1 h		0,01 ml EPL/ml 2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	93,2	132,9	144,0	195,4	206,7	262,6
$s\pm$	38,4	47,8	49,9	55,3	52,1	43,1

n = 16

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe Trig > 170 mg%.

Zusammenfassung der Ergebnisse dieser zwei Versuche:

Aus den zwei Tabellen ist ersichtlich, daß der PL-Gehalt in Abhängigkeit der Zeit und der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut im Blutkuchen und im Serum steigt. Der Blutkuchen besitzt immer einen höheren PL-Gehalt als das Serum. Die Gruppe Trig < 170 mg% besitzt dieniedrigsten Anfangswerte im PL-Gehalt und wird trotz ihrer höheren Steigungsrate (vergleiche Tabelle A) in den PL-Werten der Gruppe Trig > 170 mg% übertroffen.

5. Ergebnisse aus Versuchen mit Na-Citrat-Blut in Abhängigkeit des Cholesterin-Spiegels unter Berücksichtigung der Triglyceridwerte

Es erfolgte eine Einteilung in 4 Gruppen:

Gruppe A Chol < 280 mg% + Trig < 170 mg%
Gruppe B Chol < 280 mg% + Trig > 170 mg%

dazu Abb. 4

Gruppe C Chol > 280 mg% + Trig < 170 mg%
Gruppe D Chol > 280 mg% + Trig > 170 mg%

dazu Abb. 5

Abb. 4

CITRAT-BLUT

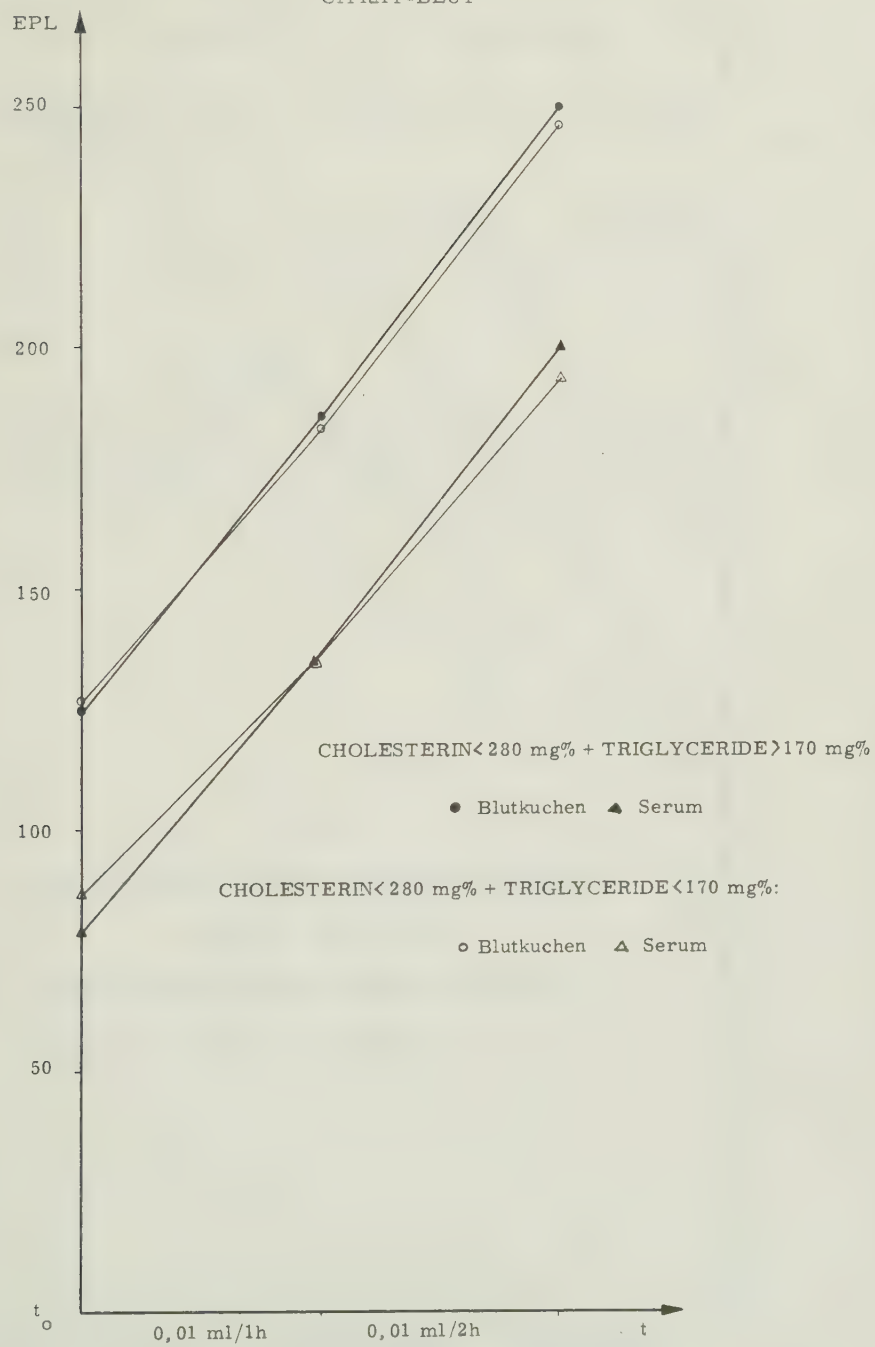
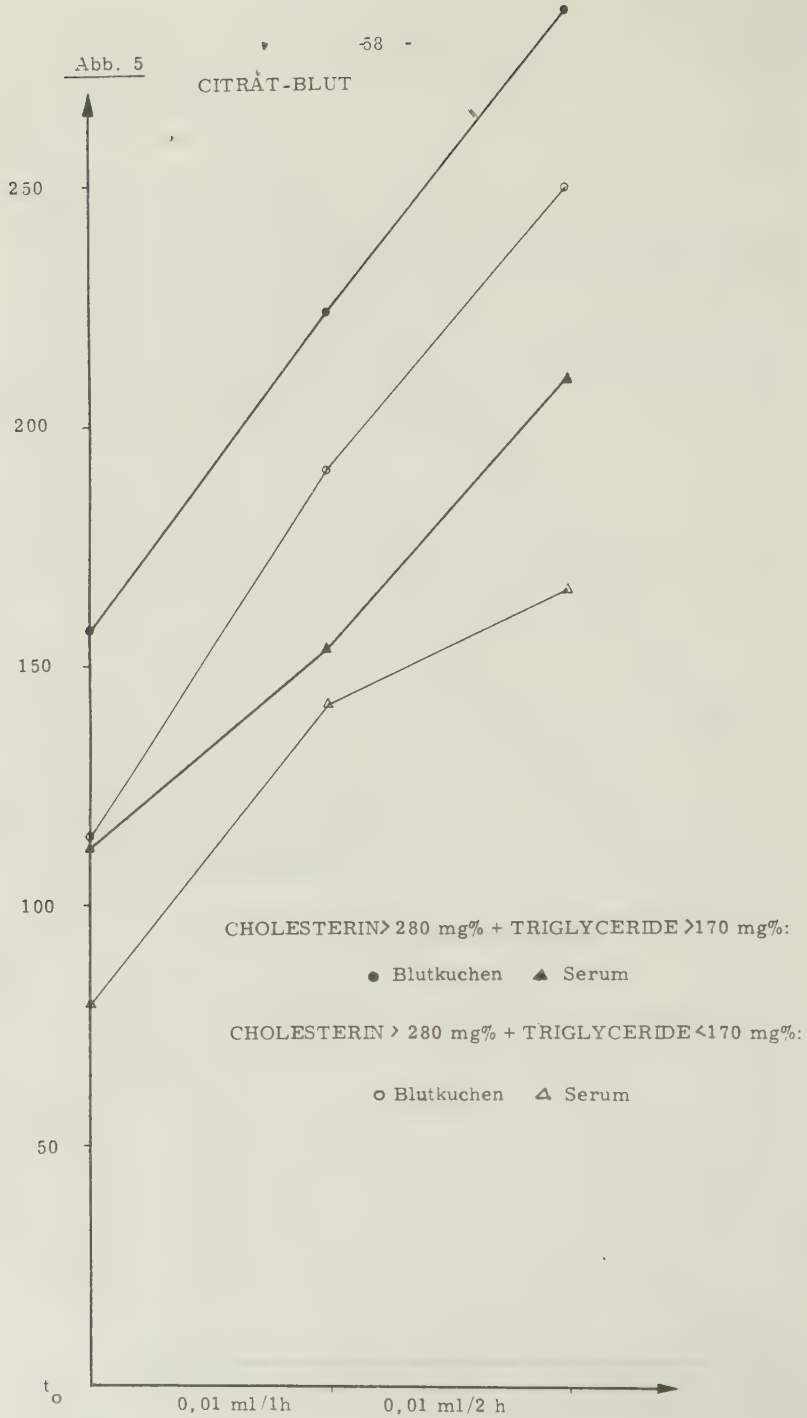


Abb. 5


CITRÄT-BLUT
250
200
150
100
50
t_o
0,01 ml/1h
0,01 ml/2 h
CHOLESTERIN> 280 mg% + TRIGLYCERIDE >170 mg%:
● Blutkuchen ▲ Serum
CHOLESTERIN > 280 mg% + TRIGLYCERIDE <170 mg%:
o Blutkuchen △ Serum

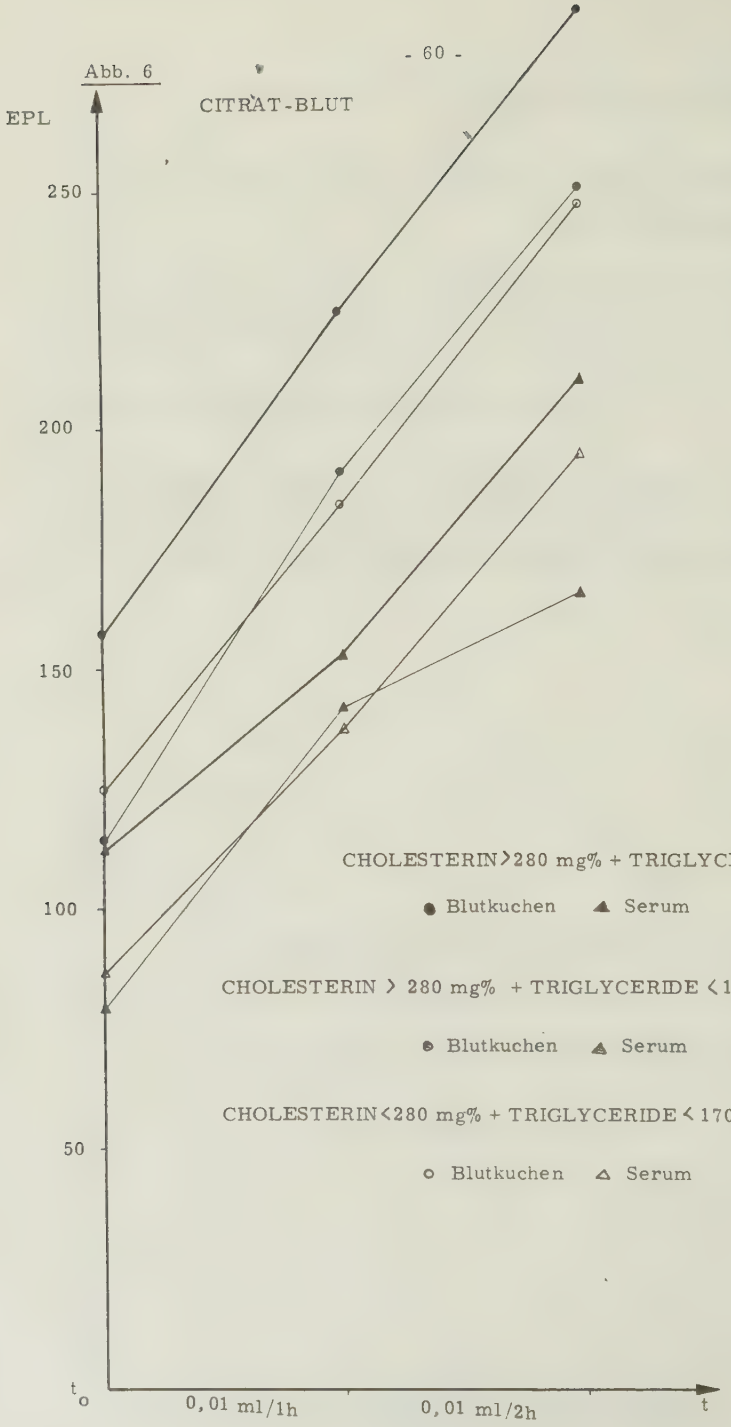
Legende zu Abbildung 4 und 5:

Abbildung 1 zeigt die PL-Gehalte im Blutkuchen und im Serum in Abhängigkeit der Zeit

(t_o = PL-Gehalt ohne Gabe von EPL und ohne Inkubation
1h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 1 Stunde Inkubation
2h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 2 Stunden Inkubation)

und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut unter Berücksichtigung des Chol-Spiegels und des Triglycerid -Spiegels. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Citrat zugesetzt.

Abb. 6


CITRAT-BLUT
EPL
250
200
150
100
50
CHOLESTERIN>280 mg% + TRIGLYCERIDE>170 mg%
Blutkuchen
Serum
CHOLESTERIN > 280 mg% + TRIGLYCERIDE < 170 mg%:
Blutkuchen
Serum
CHOLESTERIN<280 mg% + TRIGLYCERIDE < 170 mg%:
Blutkuchen
Serum
t o
0,01 ml/1h
0,01 ml/2h
t

Legende zu Abbildung 6:

Abbildung 6 zeigt die PL-Gehalte im Blutkuchen und im Serum in Abhängigkeit der Zeit

(t_o = PL-Gehalt ohne Gabe von EPL und ohne Inkubation
1h = nach Gabe von 0,01 mit EPL/ml Blut und nach 1 Stunde Inkubation
2 h = nach Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut und nach 2 Stunden Inkubation)

und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut unter Berücksichtigung des Chol-Spiegels und der Triglycerid -Spiegels. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Citrat zugesetzt.

Tabelle 1

	ohne EPL		0,01 ml EPL/ml		0,01 ml EPL/ml	
	t_o		1h		2h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	86,8	125,4	137,4	184,4	194,0	246,5
s $\pm$	33,5	42,2	46,8	53,1	47,3	46,0

n = 49

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe A.

Tabelle 2

	ohne EPL		0,01 ml EPL/ml		0,01 ml EPL/ml	
	t_o		1h		2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	78,6	124,8	136,9	185,8	200,4	250,0
s $\pm$	30,8	33,5	36,3	43,0	43,0	40,4

n = 12

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe B.

Tabelle 3

	ohne EPL		0,01 ml EPL/ml		0,01 ml EPL/ml	
	t_o		1 h		2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	79,5	113,8	141,8	191,4	166,3	250,3
$s\pm$	57,5	62,5	69,3	90,0	45,4	86,3

n = 10

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe C.

Tabelle 4

	ohne EPL		0,01 ml EPL/ml		0,01 ml EPL/ml	
	t_o		1 h		2 h	
	S	B	S	B	S	B
$\bar{x}$	112,0	157,0	153,0	224,3	210,0	286,5
$s\pm$	56,7	70,7	68,9	74,7	75,5	50,6

n = 4

Diese Tabelle zeigt den PL-Gehalt der Gruppe D.

Zusammenfassung der Ergebnisse dieser vier Versuche

Aus den vier Tabellen ist ersichtlich, daß der PL-Gehalt in Abhängigkeit der Zeit und in Abhängigkeit der Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut im Blutkuchen und im Serum ansteigt. Der Blutkuchen besitzt immer einen höheren PL-Gehalt als das Serum. Gruppe A und B zeigen ähnliche Verhaltensweisen in der PL-Zunahme im Serum wie im Blutkuchen.
Bei Gruppe B fällt ein relativ geringer PL-Gehalt im Zweistundenwert auf.
Gruppe D besitzt in allen Werten den größten PL-Gehalt, obwohl hier die geringste Steigung von allen Gruppen A-D vorliegt (ver-

gleiche Tabelle A) (vergl. dazu Abb. 6)

Tabelle A

Zunahme in Prozent des nachweisbaren PL-Gehaltes

Gruppeneinteilung	von t_o - 1 h(%)		von t_o - 2 h (%)		von 1h-2 h(%)	
Natriumcitrat						
Chol < 150 mg%	30,9	48,8	96,4	85,6	50,1	24,7
Chol 150-280 mg%	59,9	49,4	136,0	103,0	48,4	35,9
Chol > 280 mg%	71,4	57,5	133,3	112,3	36,1	34,8
Liquemin						
Chol < 150 mg%	107,9	72,5	221,4	137,4	54,6	37,7
Chol 150-280 mg%	78,6	52,0	164,7	101,8	48,2	32,7
Chol > 280 mg%	100,0	81,0	228,2	138,5	64,0	31,8
Natriumcitrat						
Trig < 170 mg%	59,4	52,9	125,6	111,5	41,6	38,3
Trig > 170 mg%	54,5	47,0	121,8	97,6	43,5	34,4
Natriumcitrat						
mg% mg%						
Chol < 280+Trig < 170	58,3	47,0	123,5	96,6	41,2	33,7
Chol < 280+Trig > 170	74,2	48,9	155,0	100,3	46,4	34,6
Chol > 280+Trig < 170	78,4	68,2	109,2	120,0	17,3	30,8
Chol > 280+Trig > 170	36,6	42,9	87,5	82,5	37,3	27,7

Aus dieser Tabelle ist die Zunahme des PL-Gehaltes in Abhängigkeit der Zeiten unter Berücksichtigung des Chol- bzw. Triglycerid-Spiegels ersichtlich.

Die erste Spalte zeigt die Zunahme zwischen dem Anfangswert t_o und zweiter Stunde bei Blutkuchen und Serum, und die dritte Spalte die Zunahme zwischen erster Stunde (1 h) und

zweiter Stunde (2 h) im Blutkuchen und Serum

Abk.: S - Serum, B - Blutkuchen, t_o = Anfangswert, 1 h = Einstundenwert, 2 h = Zweistundenwert, Chol = Cholesterin, Trig = Triglycerid

V. ERGEBNISSE

Ergebnisse zur Frage A

Die Untersuchungen erfolgten nicht unter Berücksichtigung eines Diabetes.

1. Phospholipidverhalten bei Citrat-Blut in Abhängigkeit einer Hypercholesterinämie

Das Blut der Probanden mit einer Hypercholesterinämie unterscheidet sich hinsichtlich der Phospholipidfreisetzung eindeutig von Normocholesterinämikern, da sie mit den geringsten Phospholipid-Anfangswerten die höchste Steigerungsrate unter Gabe von EPL und nach Inkubation entwickeln; d.h. sie setzen unter Inkubation Phospholipid frei. Der Phospholipid-Gehalt im Blutkuchen und im Serum lag nach 2 h Inkubation höher als die Gruppe mit Chol-Werten < 150 mg%. (Abb. 1)

2. Phospholipidverhalten bei Citrat-Blut in Abhängigkeit einer Hypertriglyceridämie

Probanden mit einer Hypertriglyceridämie besitzen einen deutlich erhöhten Phospholipidanfangswert und zeigen trotz einer geringeren Zunahme der Phospholipidfreisetzung einen größeren Phospholipidgehalt als die Probanden mit einem normalen Triglyceridwert (Abb. 3).

3. Phospholipidverhalten bei Citrat-Blut in Abhängigkeit einer Hypercholesterinämie unter Berücksichtigung des Triglycerid-Spiegels

Patienten mit einer Hypercholesterinämie und einer Hypertriglyceridämie

zeigten ein anderes PL-Freisetzungsverhalten als Patienten, die eine Hypercholesterinämie und normale Triglyceridwerte hatten. Die PL-Anfangswerte lagen bei den Patienten mit einer Hypercholesterinämie und einer Hypertriglyceridämie extrem hoch und setzten unter Inkubation enorme Phospholipidmengen frei. Diese Patienten zeigten von allen Probanden die höchsten Phospholipid-Gehalte.
Die Probandengruppe mit einer Hypercholesterinämie und normalen Triglyceridwerten besaßen die geringsten PL-Anfangswerte, vermehrten jedoch aufgrund der höchsten Steigerungsrate unter der Inkubation ihren PL-Gehalt im Blutkuchen der über demjenigen der Gruppe mit normalen Chol-Wert lag; das Serum setzte jedoch nur sehr gering Phospholipid frei (Abb 6).

4. Phospholipidverhalten bei Liquemin-Blut in Abhängigkeit einer Hypercholesterinämie

Bei diesen Untersuchungen wurden nur Berechnungen in Abhängigkeit der Cholesterinwerte, jedoch nicht unter der Berücksichtigung der Triglyceridwerte durchgeführt.

Patienten mit einer Hypercholesterinämie hatten geringere Phospholipidanfangswerte als die Probandengruppe Chol 150-280 mg%, erreichten jedoch schon nach einer Stunde Inkubation im Blutkuchen die höchsten Phospholipidwerte, und wiesen nach der zweiten Stunde Inkubation aufgrund der höchsten Phospholipid-Freisetzungsrate in beiden Medien den größten Phospholipid-Gehalt auf (Abb. 2).

Ergebnisse zur Frage B

a) Bestehen auffallende Unterschiede der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Inkubationszeit?

Die Freisetzungsrate des Phospholipids lag in der ersten Stunde bis auf zwei Ausnahmen sowohl im Blutkuchen als auch im Serum höher als in der zweiten Stunde.

Ausnahmen:

Cholesterin < 150 mg% und Cholesterin > 280 mg%+ Trig > 170 mg% (Natrium-Citrat-Blut). Bei diesen beiden Gruppen war die Phospholipid-Freisetzung im Serum nach der zweiten Stunde größer als in der ersten Stunde.

b) Bestehen auffallende Unterschiede des Ergebnisses in Abhängigkeit von der essentiellen Phospholipidzugabe?

Die Abhängigkeit der EPL-Gabe zeigt sich auffallend bei den pathologischen Cholesterin-Werten.

Mit Hilfe der EPL-Gabe waren bei diesen Gruppen Serum und Blutkuchen in der Lage, die geringsten Phospholipid-Werte am Anfang unter Inkubation so zu steigern, daß sie entweder den PL-Gehalt der Gruppe mit normalem Cholesterinwert 150-200 mg% (Abb. 1) oder sogar den höchsten PL-Gehalt (Abb. 2) erreichen konnten.

c) Bestehen auffallende Unterschiede des Ergebnisses in Abhängigkeit von dem Medium (Plasma, bzw. Blutkuchen)?

Das Plasma zeigte in allen Fällen einen geringeren PL-Gehalt als der Blutkuchen.

ERGEBNISSE ZUR FRAGE C

Tabelle 1

Zu den errechneten Durchschnittswerten $\bar{x}$ vergl. Tabe. A und V, 2, Tab. 3

$S(\bar{x} = 71,4\%)$ $B(\bar{x} = 57,5\%)$ $S(\bar{x} = 77,4$ ml) $B(\bar{x} = 114,5$ ml) $\frac{\text{Chol}}{\text{Trig}}$

	t_o - 1 h	t_o - 1 h	t_o	t_o	
H.	91	27	132	222	237/125
G.	367	232	36	64	311/125
S.	293	308	14	24	311/125
B.	134	104	50	84	285/130

$\bar{x}$ = errechneter Durchschnitt

S = Serum

B = Blutkuchen

% = Steigung vom Zeitpunkt t_o bis 1 Stunde (1 h)

ml = Phospholipid-Gehalt zum Zeitpunkt t_o

Großbuchstaben am Anfang einer Zeile = Proband

Die Tabelle zeigt exzessiv hohe PL-Umsatzraten von t_o - 1 h für die Gruppe Chol $>$ 280 mg% bei der Versuchsanordnung mit Na-Citrat-Blut. Bei den Ergebnissen dieser Blutproben fällt auf:

1. Das Serum des Probanden H. zeigt eine höhere als im Durchschnitt berechnete Steigung, der Blutkuchen jedoch weist eine nur halb so hohe PL-Steigerungsrate auf als im Durchschnitt errechnet worden ist.
2. Im Gegensatz zu der sonst allgemein nachgewiesenen größeren PL-Steigerungsrate im Serum als im Blutkuchen, kommt es bei den Proben des Probanden S. zu einer exzessiveren PL-Freisetzungsrate im Blutkuchen als im Serum.

3. Bei den beiden Probanden H. und S., die die größten PL-Steigerungsraten zeigten, liegen sowohl im Serum als auch im Blutkuchen nur sehr geringe PL-Ausgangswerte vor.

Tabelle 2

Zu den errechneten Durchschnittswerten $\bar{x}$ vergl. Tab. A und V, 4, Tab. 2

	S ($\bar{x}$=54,5%)	B ($\bar{x}$=47,0%)	S($\bar{x}$=93,2ml)	B($\bar{x}$=132,9ml)	Chol/Trig
	t_o - 1 h	t_o - 1 h	t_o	t_o	
Z.	131	101	52	87	254/291

Diese Tabelle zeigt exzessiv hohe PL-Umsatzraten von t_o - 1 h für die Gruppe Trig > 170 mg% bei der Versuchsanordnung mit Na-Citrat-Blut.

Diese Ergebnisse zeigen eine größer PL-Zunahme in der Zeit von t_o - 1 h als im Durchschnitt errechnet worden ist. Die Serum- und Blutkuchen-PL-Anfangswerte liegen hier weit unter dem errechneten Durchschnitt.

Tabelle 3

Zu den errechneten Durchschnittswerten $\bar{x}$ vergl. Tab. A und V, 3, Tab. 3

	S($\bar{x}$=100,0%)	B($\bar{x}$=81,0%)	S($\bar{x}$=58,8ml)	B($\bar{x}$=105,0ml)	Chol
	t_o - 1 h	t_o - 1 h	t_o	t_o	
A.	185	110	33	77	311

Diese Tabelle zeigt exzessive hohe PL-Umsatzraten für die Gruppe Chol > 280 mg% bei der Versuchsanordnung mit Liquemin-Blut.

Diese Ergebnisse zeigen eine größere PL-Zunahme als im Durch-

schnitt berechnet in der Zeit von t_o - 1h; die PL-Anfangswerte liegen im Serum, wie auch im Blutkuchen unter den allgemeinen Durchschnittswerten.

Tabelle 4

Zu den errechneten Werten $\bar{x}$ vergl. Tabelle A und V, 2, Tab. 1

	S($\bar{x}$=10,9%) t_o - 1 h.	B($\bar{x}$=48,8%) t_o - 1 h	S($\bar{x}$=95,5 ml) t_o	B($\bar{x}$=128,8ml) t_o	Chol
S.	23	42	102	132	145

Diese Tabelle zeigt exzessiv niedrige PL-Umsatzraten für die Gruppe Chol < 150 mg% bei der Versuchsanordnung mit Na-Citrat-Blut.

Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die PL-Steigerungsrate weit unter dem errechneten Durchschnitt liegt; die PL-Anfangswerte liegen bei diesem Probanden im Serum und im Blutkuchen über den PL-Durchschnittswerten.

Tabelle 5

Zu den errechneten Durchschnittswerten $\bar{x}$ vergl. Tabelle A und V, 2, Tab. 3

	S($\bar{x}$=71,4%) t_o - 1h	B($\bar{x}$=57,5%) t_o - 1 h	S($\bar{x}$=77,4ml) t_o	B($\bar{x}$=114,5ml) t_o	Chol/Trig
H.	37	38	111	152	299/180
B.1	37	37	103	141	317/362
G.	47	51	105	140	290/90
Z.	37	27	67	88	362/150
B.2	33	56	252	288	338/65

Tabelle 5 zeigt exzessiv niedrige PL-Umsatzraten für die Gruppe Chol $>$ 280 mg% bei der Versuchsanordnung mit Na-Citrat-Blut.
Bei den Ergebnissen der drei Probanden H., G. und B2, zeigt sich, daß im Gegensatz zu der sonst allgemein nachweisbaren größeren PL-Zunahme im Serum als im Blutkuchen, hier der Blutkuchen mehr PL freisetzt als das Serum.
Bis auf das Blut des Probanden Z. liegen alle Serum- und Blutkuchen-PL-Anfangswerte über dem errechneten Durchschnitts-PL-Gehalt.

Tabelle 6
Zu den errechneten Durchschnittswerten $\bar{x}$ vergl. Tab. A und V, 4, Tab. 1

	S($\bar{x}$=59,4%)	B($\bar{x}$=52,9%)	S($\bar{x}$=86,6ml)	B($\bar{x}$=123,5ml)	Chol/Trig
	t_o - 1h	t_o - 1 h	t_o	t_o	
R.	25	24	95	112	245/79
G.	23	31	91	116	177/33
T.	21	35	96	120	216/93

Diese Tabelle zeigt exzessiv niedrige PL-Umsatzraten für die Gruppe Trig $<$ 170 mg% bei der Versuchsanordnung mit Na-Citrat-Blut.

Aus den Ergebnissen der zwei Probanden B. und T. ist eine stärkere Zunahme des PL-Gehaltes im Blutkuchen als im Serum, die im allgemeinen im Serum größer als im Blutkuchen ist, ersichtlich.
Die Serum-PL-Anfangswerte liegen hier oberhalb des Durchschnitt-PL-Gehaltes und die Blutkuchen PL-Ausgangswerte unterhalb dieser Grenze.

D ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Bei den verschiedenen Versuchen ergab sich folgendes:

1. Ohne Gabe von 0,01 ml EPL/ml Blut kam es auch unter Inkubation des Vollblutes bei 37°C nicht zu einem PL-Anstieg.
2. Bei den Versuchen mit Liquemin-Blut zeigte sich bei allen Werten der geringste Anfangsphospholipidgehalt im Vergleich zu den Versuchen mit Na-Citrat-Blut; nach zwei Stunden Inkubation erreichte diese Gruppe III einen Phospholipid-Gehalt der im Bereich des Citrat-Blutes lag. Hierbei wurde von der Gruppe mit hohen Cholesterin-Werten die größe Phospholipidfreisetzung nach zwei Stunden erlangt.
3. Die Gruppe IV (in Abhängigkeit des Triglycerid-Wertes) setzte nach zwei Stunden Inkubation die höchsten Werte im Vergleich zu den Gruppeneinteilungen, die in Abhängigkeit des Cholesterinwertes gebildet worden waren.
4. Bei den Berechnungen des Phospholipid-Gehaltes der Gruppen, die eine Abhängigkeit des Cholesterin-Wertes unter Berücksichtigung des Triglycerid-Spiegels besaßen, ergab sich, daß bei der Gruppe Cholesterin $>$ 280 mg% und Triglycerid $>$ 170 mg% enorm hoher Phospholipid-Gehalt freigesetzt wurde.
   Die Gruppe Cholesterin $>$ 280 mg% und Triglyceride $<$ 170 mg% lag eher mit ihrem Phospholipid-Gehalt und ihrer -Freisetzung im Bereich der Gruppe Chol $<$ 280 mg% und Triglyceride $<$ 170 mg%.
5. Bei den Versuchen ergab sich, daß der Phospholipid-Gehalt des Serums nach einer Stunde Inkubation den Phospholipid-Gehalt des Blutkuchens vor der Inkubation erreichte.

VI. DISKUSSION

A) Diskussion der Methode

Die vorliegende Arbeit hat eine andere Untersuchungsmethode zur Grundlage, verglichen mit der üblichen Bestimmungsmethode der PL, die im wesentlichen auf einer Trennung des organischen und des anorganischen Phosphats und der darauffolgenden Phosphatbestimmung beruht. Die hier verwendete Methode geht nicht nur von Konzentrationen des organischen wasserunlöslichen Phosphatanteils aus, sondern versucht, auch zusätzlich die Kinetik der PL-Verteilung im Blut zu erfassen (49).

Dieses Vorgehen wird folgendermaßen begründet:
Vorversuche haben ergeben, daß die einfache Inkubation von Citratblut bei 37°C keine Änderung des Verhältnisses der Konzentrationen an PL zwischen Serum und Festbestandteil bewirkt. Werden jedoch dem gleichen Citrat-Blut geringe Mengen PCh plus wasserlösliche Vitamine des B-Komplexes sowie Spuren Nicotinsäureamid zugesetzt[1], bewirkt die einstündige Inkubation der Blutprobe eine Änderung der nachweisbaren Absolutmengen an PL im Serum wie auch im Blutkuchen, die in keinem Verhältnis zu der zugegebenen PL-Menge steht. Die Trennung der Ergebnisse von Blutproben von Patienten mit hohem und niedrigem Serum-Chol ergab eine erhöhte PL-Änderung bei erhöhtem Serum-Chol. Dieser Feststellung ging die vorliegende Untersuchung nach.

Um zu erfahren, ob der vorgefundene PL-aktivierende Effekt an die Gerinnungsbedingung gebunden ist, wurde das Ergebnis aus einer

---

1 Essentiale flüssig, Fa. Nattermann, Köln

Gruppe Citrat-Blutproben mit dem Ergebnis einer Gruppe von Blutproben, die mit Liquemin ungerinnbar gemacht worden waren, verglichen. Eine ähnliche Vergleichsuntersuchung ist nach Literaturangaben bisher nicht vorgenommen worden.

Da es sich bei der Auswertung zeigte, daß die gleichzeitige Erhöhung des Triglycerid-Gehaltes ein anderes Verhalten hinsichtlich der PL-Mobilisation bewirkt, wurden die Blutproben auch dahingehend untersucht, in welcher Weise sich ihr PL-Gehalt bei hohem und niedrigem Begleit-Triglyderid ändert.

Obwohl das Ergebnis der Untersuchung eindeutig ist, enthält der Verteilungsbefund für PL eine gewisse Problematik: Zunächst fällt der stets höhere PL-Gehalt des Blutkuchens gegenüber dem des Serums auf. Weiter ist zu beachten, daß in Abhängigkeit der Zeit die nachweisbare PL-Menge zunimmt, wobei die Maxima der Zunahme in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt unterschiedlich verteilt sind. Die durchschnittlichen Ausgangsabsolutwerte für PL differieren ebenfalls, wenn man den Blutfettgehalt als Unterscheidungsmerkmal der Patientengruppen heranzieht.

Zur Orientierung sei bemerkt, daß die PL-Untersuchungen stets von derselben Person nach demselben Verahren durchgeführt worden sind, so daß der individuelle Fehler in den Gruppen vergleichbar sein müßte.

Bewertet wurden nur Gruppendurchschnittswerte. Der Vergleich der Gruppen basiert ausschließlich auf diesen Werten.

Abschließend sei zur Methodenbesprechung bemerkt, daß die Genauigkeit der im Verfahren nach BLOOR (49) notwendigen Titration durch einen eigens dafür in Vorversuchen entwickelten, sehr empfindlichen Indikator erhöht wurde und dadurch ihre Verläßlichkeit für quantitative

Untersuchungen verbessert werden konnte.

B) Diskussion der Ergebnisse

Wie aus Abb. 1 und 2 hervorgeht, ist der beschriebene PL-aktivierende Effekt im Citrat- und Liquemin-Blut verschieden. Während in den Citrat-Blutproben im Durchschnitt bereits höhere Anfangskonzentrationen festzustellen sind, erscheint die durchschnittliche PL-Zunahme in den Liqueminproben, deren Anfangskonzentrationen niedriger liegen, intensiver, so daß nach einer Beobachtungszeit von einer Stunde Inkubation die Durchschnittswerte von PL im Serum und im Blutkuchen bei beiden Proben etwa im gleichen Bereich liegen. Jedoch weisen die einzelnen Gruppen (hohes Chol, mittleres Chol, niederes Chol) des Citrat-Blutes und des Liquemin-Blutes Differenzen in den PL-Durchschnittswerten und in den Steigerungsraten sowie eine Differenz der PL-Durchschnittswerte im Serum und Erythrozyten auf.

Von Bedeutung ist, daß unabhängig von der zugeführten PL-Menge im Serum und im Blutkuchen PL nochmals vermehrt nachweisbar sind, wenn die Probe statt einer Stunde zwei Stunden inkubiert wurde.
Als wichtigster Befund geht aus den Abbildungen 5 und 6 hervor, daß Patienten mit hohem Serum-Chol und erhöhtem Triglycerid auch erhöhte Serum- und Blutkuchen-PL bereits vor Zugabe von PL aufweisen, im Gegensatz zu Gruppen mit mittlerem und niedrigem Chol.
Der Triglycerid-Gehalt scheint bei erhöhtem Chol-Spiegel ebenfalls einen Einfluß auf die PL-Freisetzung zu haben (Abb. 5).
Bei normalen Chol-Werten besteht bei der PL-Freisetzung jedoch keine Abhängigkeit vom Triglycerid-Gehalt (Abb. 4).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß in Abhängigkeit von Chol- und Triglycerid-Werten im Blut ein PL-Stoffwechsel stattfindet, der durch das verwendete gerinnungshemmende Mittel unmittelbar beein -

flußt ist (Liquemin-Blutproben enthalten im Vergleich zu den Citrat-Blutproben durchschnittlich niedrigere PL-Anfangskonzentrationen im Serum und im Blutkuchen). Die PL-Bildung während der Inkubation bei 37°C ist jedoch durch Liquemin nicht hemmbar, im Gegenteil, liqueminhaltige Proben weisen, wie die Ergebnisse auf Tabelle A , S. 64 erkennen lassen, die deutlich größere Steigerungsrate nachweisbarer PL auf.

C) Deutung der Befunde und Versuch einer Interpretation der nachgewiesenen PL-Vermehrung im Blut während Inkubation nach PCh-Angebot

Aus der Literatur (22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31) gibt es keinen Hinweis auf die gefundene Tatsache, daß Erys aktiv am PL-Stoffwechsel teilnehmen. Es sind wohl einige Arbeiten bekannt, in welchen dargelegt wird, daß unterschiedliche Chol/PL-Verhältnisse zu Änderungen der Membran-Eigenschaften führen (25, 26, 27, 30, 31).

Das normale Verhältnis von Chol zu PCh beträgt in der Ery-Membran 0,9 - 1,0 (10). Bei diesem Verhältnis kommt es zu einer Interaktion des Chol mit PL, so daß ein geordneter Oberflächenbilayer erzielt wird. Krankheiten können allerdings eine Änderung zu ungunsten der PL bewirken, wobei das Verhältnis Chol/PL bis 1,6 ansteigen kann (26, 27, 30).

Dieses ungleiche Verhältnis führt nach Angabe zu Veränderungen der Zellmembraneigenschaften.

Die Literatur liefert hinsichtlich einer Änderung im Chol-Gehalt der Zellmembran einige Befunde, jedoch werden bezüglich einer Änderung im PL-Gehalt ähnliche Zusammenhänge nicht mitgeteilt, mit der

Ausnahme, daß sich das Verhältnis Chol/PL in der Membran stark ändern kann. Chol-Überschuß in der Membran bedingt einen relativen PL-Mangel. Ungleichgewichte im Verhältnis des Chol/PL führen nun in der Membran zu:

1) Änderung der Plastizität (11)

Um eine gleichmäßige Plastizität des Erys zu erhalten, liegt die Fluidität der FS-Ketten der PL in dem Bilayer unter der Kontrolle des Chol. Es ermöglicht den Acylketten der PL eine bestimmte Bewegungsfreiheit, um so die Zellmembran gegen mögliche schädliche Änderungen der Fluidität zu schützen, die sonst durch einen veränderten FS-Gehalt bei Variation der Lipidzufuhr (z.B. Diät) hervorgerufen werden könnten (12).
Vermehrter Chol-Gehalt führt aufgrund einer eingeschränkten Mobilität der PL-Acyl-Ketten zu einer Abschwächung der Membran-Fluidität (30).

2) Änderung der Resistenz

Chol kontrolliert die Resistenz des Erys, indem es die Permeabilität des Lipidbilayers reguliert. Steigt der Chol-Gehalt der Membran, sinkt die Permeabilität, da Chol die Ladung der PL-Endgruppen verändert (12).
Entfernt man jedoch Chol teilweise aus der Membran, steigt die osmotische Fragilität und Glycerolpermeabilität des Erys (26).
Werden Erys mit reinem PL inkubiert, wird ein Membranpermeabilitätsdefekt induziert, der aufgrund eines Regulationsmangels für die Kationendurchlässigkeit (exzessive Natriumaufnahme durch ein zerstörtes Membranproteinsystem, das den Natriumfluß reguliert) zu einer Osmolyse führt (31).

3) Änderung der Viskosität

Aufgrund unterschiedlicher Verteilung gesättigter FS im äußeren

und im inneren Layer der Ery-Membran bevorzugt Chol den äußeren Layer, d.h. der äußere Layer besitzt eine höhere Viskosität als der innere. Übersteigt der Chol-Gehalt die Norm, erhöht sich die Membran-Viskosität ebenfalls (27).

Aus den vorliegenden eigenen Befunden geht zunächst nur orientierend hervor:
Erys können offenbar zur Aktivierung ihres PL-Umsatzes stimuliert werden. Außerdem verändert der Blutfettgehalt (Chol und Trig) die Bereitschaft zur PL-Bildung, indem bei erhöhtem Triglycerid- und erhöhtem Chol-Wert in der Regel auch die größte Fähigkeit nachzuweisen ist, PL zu bilden und auf Serum und Blutkuchen zu verteilen. Diese Fähigkeit muß wohl vom Ery ausgehen, da bei der vorliegenden Versuchsanordnung in vitro ein geschlossenes System vorlag.

Als Erklärung, wie es zu dieser "PL-Bildung" kommt, könnte folgende Hypothese dienen.
Wird durch P-Ch-Zusatz eine Induktion erreicht, kommt es zu einem Verschieben, unter Umständen zu einer Neusynthese bestimmter, mit dem Extraktionsverfahren erfaßbarer PL-Fraktionen der Zelle, welche dann chemisch quantitativ als "PL-Zunahme" aus Serum und Blutkuchen nachgewiesen werden können. Wahrscheinlich sind nicht alle PL-Bestandteile der Ery-Membran mit dem angewandten Verfahren nach BLOOR (49) im organischen Lösungsmittelextrakt löslich. Man muß nämlich berücksichtigen, daß die Zellmembranen der Erythrozyten neben PL und Chol auch Proteine enthalten, welche Stabilisierungs- und Bindungsfunktion haben (1, 2, 3, 7, 8, 9) so daß organische Lösungsmittel nicht unbedingt alles PL für quantitative Messungen verfügbar machen können.
Welcher Vorgang letztlich während der Inkubation die Ablösung von PL aus Membranen und deren quantitativen Nachweis ermöglicht, muß im Rahmen dieser Arbeit offengelassen werden. Auch bleibt die Möglichkeit offen, ob die PL-Freisetzung nicht nur durch eine Verkleinerung der Ery-Oberfläche erreicht wird.

Die Produktion von nachweisbarem PL könnte über weitere Mechanismen, ausgelöst durch das zugegebene PCh /Coenzym-Gemisch, erfolgen. Einmal könnte ein energie-(ATP)verbrauchender Vorgang dafür verantwortlich sein, denn ATP an der Innenseite der Ery-Membran lokalisiert, dient als Energiedonator für die Acylierung des Lyso-Lezithins zu Lezithin (28). Freie FS, - die Hauptquelle ist das Blutplasma - werden von dem Enzym Acyl-CoA-Lysolezithin-Acyl-Transferase für die Acylierung des Lyso-Lezithins zu Lezithin benötigt. Diese Acylierung wird jedoch von dem ATP-abhängigen, FS-aktivierenden Enzym Acid-CoA-Ligase wegen seiner niedrigen Aktivität limitiert. Bei hohen ATP-Konzentrationen wiederum steigt der Umsatz der freien FS.

Möglich wäre auch die vermehrte Lysolezithinfreisetzung während der Inkubation. Lysolezithin entsteht aus der Deacylierung von Lezithin. Diese Deacylierung wird von der LCAT katalysiert, indem sie FS des PCh auf unverestertes Chol transferiert, und so die Bildung von Lyso-PCh und verestertem Chol fördert (47). Stehen der Reaktion ungesättigte FS im PCh zur Verfügung, werden äquimolare Konzentrationen von Lyso- PCh und Chol-Estern gebildet. Sind jedoch größtenteils nur gesättigte FS im PCh steigt die Lyso-Lezithin-Konzentration nicht äquimolar an. Da das zugesetzte PL auch eine ungesättigte Fettsäure ist, käme die Umsetzung als Grundlage der festgestellten Aktivierung des PL-Stoffwechsels durchaus in Betracht.

Schließlich käme noch eine LCAT-Aktivierung in Betracht. Die LCAT-Reaktion wird durch das Apoprotein A aktiviert (48). Dieses Apo A zeigt eine Wechselwirkung mit bevorzugt ungesättigtem PCh wodurch eine Enzym-Apoprotein-Komplexbildung ermöglicht wird, die nun zu einer Enzym-Substrat-Komplexbildung führt. Das zuge-

setzte hochungesättigte PCh könnte auch diesen Vorgang beeinflussen. Die durch Gabe von hochungesättigten FS an P-Ch angeregte LCAT-Aktivierung könnte somit zu einer vermehrten Katalyse von unverestertem Chol zu verestertem Chol beitragen und vor allem zu einer vermehrten Lyso-Lezithin-Bildung führen. Dieses Lyso-Lezithin könnte dann von der Ery-Membran zu Lezithin acyliert werden.

Nicht berücksichtigt wurden bei diesen Überlegungen die Rolle des Blut-ph Wertes, sowie die Elektrolyt-Konzentrationen. Diese Möglichkeit einer Membran-Stoffwechsel-Aktivierung muß im Rahmen einer anderen Arbeit Gegenstand von Untersuchungen sein.

D) Bedeutung für die praktische Diagnostik

Die praktische Bedeutung der vorliegenden Arbeit ist zu sehen

1) in dem Nachweis, daß die Erys des Blutes in einer bisher nicht gekannten Weise an dem PL-Stoffwechsel teilnehmen,

2) daß der PL-Umsatz offenbar direkt proportional und abhängig von dem Blut-Lipid-Gehalt (Chol und Trig) ist, und

3) daß es sich um einen zeitabhängigen, nur an die Erys gebundenen Vorgang handelt, welcher im Anfangsstadium durch gerinnungshemmende Mittel (Liquemin) beeinflußbar ist. Daraus ergibt sich ein Hinweis für einen gewissen Zusammenhang zur Blutlipaseaktivität.

Da PL neben denGallensäuren einen wesentlichen "Klär- und Löslichkeitsfaktor" des Blutes (32) darstellen, wird verständlich, daß der hier erstmals beschriebenen Möglichkeit einer Aktivierung der eryabhängigen PL-Bildung im Rahmen prophylaktischer Maßnahmen

eine besondere Bedeutung zukommt. Dies wird durch die Tatsache belegt, daß der Entzug essentieller PL zu einem beträchtlichen Anstieg der Neutralfette führt, zu einem mäßigen Abfall des totalen PL-Gehaltes und zu einem großen Abfall der Lezithinkonzentration.

VII. ALLGEMEINE ZUSAMMENFASSUNG

In Gruppenuntersuchungen von Citrat-Blut (n=91) und Heparin-Blut (n= 50) konnte gezeigt werden, daß Erys des Menschen einen intensiven PL-Stoffwechsel haben, der durch an hochungesättigten Fettsäuren reiches PCh aktivierbar ist und dies umso stärker, je höher der Lipid-Gehalt des Blutes (Chol und Trig) gefunden wird.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neues Untersuchungsverfahren zur Objektivierung eines PL-Umsatzes im Blut vorgestellt. Seine Aussagemöglichkeiten wurden diskutiert.

Da in der Literatur noch keinerlei Angaben zur Induktion der PL-Bildung am Ery enthalten sind, wird abschließend versucht, eine Hypothese für die gefundene "PL-Neubildung" im geschlossenen System zu erstellen und durch bekannte biochemische Zusammenhänge zu erklären.

Herrn Professor Dr. med. K. Kochsiek möchte ich für die Übernahme des Korreferates danken.

Herrn Professor Dr. med. Dipl. chem. L. Maiwald möchte ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit herzlich danken.

Frau Margret Wechner möchte ich für die wertvolle Unterstützung bei den experimentellen Untersuchungen im Labor herzlichen Dank sagen.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1) Finean, J.B.
Phospholipids in Biological Membranes and the Study of Phospholipid Protein Interactions
In: ed. by Anselm, J.N. Hawthorne, R.M.C. Dawson, Form and Functions of Phospholipids,
Elsevier Scientific Publishing Company - Amsterdam - London - New York 1973, Vol. 3

2) Coleman, R.
Membrane - Bound Enzymes and Membrane Ultrastructure
Biochim.Biophys.Acta, 300, pp 1-30 (1973)

3) Schettler, G.
Phospholipide in Biochemie, Experiment und Klinik
Thieme Stuttgart 1972

4) Åkesson, B., R. Sundler and Å. Nillson
Biosynthesis of Molecular Species of Glycerolipids in Isolated Rat Hepatocytes
In: ed. by. Paoletti, R.G. Porcelatti and G. Jacini
Lipids, Raven Press, New York 1976, Vol. 1

5) Rothmann, J.E. and J. Lenard
Membrane Asymmetry
Science 195: 743 (1977)

6) Jones, N.C. and M.J. Osborn
Translocation of Phospholipids between the Outer and Inner Membranes of Salmonella Typhimurium
J.Biol.Chem., Vol. 252, pp. 7405-7412 (1977)

7) Nanni, G., U. Pala, G. Cinollo, U.M. Marinari, A. Casu
Some Characteristics of the Residue obtaines after Pronase Treatment of Sheep Erythrocyte Membrane In: Protein and Phospholipid Patterns
Ital. J. Biochem., Vol. 26, pp. 215-231 (1977)

8) Casu, A.
Some Aspects on the Role of Phospholipids in Biological Membranes Structure and Function
Pathologica 69, pp. 347-367 (1977)

9) Marchesi, U.T.
Molecular Orientation of Proteins in Membranes
Ed. Fox C.F., Butterworth, London
pp. 123 - 154 (1975)

10) de Kruyff, Bl.
Lipid-Stool Interactions in Membranes
In: Lipids, ed. by Paoletti, R.G. Porcelatti and G. Jacini
Raven Press, New York 1976, Vol. 1

11) Lyte, M.
Cholesteryl - Phosphoryl - Choline in Lipid Bilayers
Chem. Phys. Lipids, Vol. 24, pp. 45 - 55 (1979)

12) Cooper, R.A. and M.H. Leslie
Factors Influencing the Lipid Composition and Fluidity of Red Cell Membranes in Vitro: Production of Red Cells Possessing more than Two Cholesterol per Phospholipid
J. Am. Chem. S.
pp. 327 - 331 (1978)

13) Malkiewicz-Wasowicz, B.
The Influence of Changes in the Phospholipid-Pattern of Intact Fibroplasts on the Activities of Four Membrane Bound Enzymes
Biochim.Biophys.Acta, Vol. 482, pp. 358 - 369 (1977)

14) Gercken,G. and W. Witt
Transphosphatidylierungs-Reaktionen mit Phospholipase D in Erythrozytenmembranen
Acta Biol. Med. Germ. Band 36, pp. 837 - 842 (1977)

15) van Deenen,L.L.M. and G.H. de Haas
Phosphoglycerides and Phospholipases
Ann.Bioch. Vol. 35, Part. 1, pp. 157- 194 (1965)

16) Hawthorne, J.N.
Phospholipid Metabolism and Transport of Materials across the Cell Membrane
In: ed by Ansell,G.B. J.N. Hawthorne - R.M.C.Dawson Form and Functions of Phospholipids, Elsevier Scientific Publishing Company
Amsterdam - London - New York 1973, Vol. 3

17) Fenster, L.J. and J.H. Copenhaver Jr.
Phosphatidyl serine Requirement of (Na^+-K^+) activated Adenosine Triphosphatase from Rat Kidney and Brain
Biochim.Biophys.Acta, 137 pp. 406 (1967)

18) Wheeler,K.P. and R. Whittham
ATPase Activity of the Sodium Pump weeds Phosphatidyl-serine
Nature, 225 pp 449 (1970)

19) Rethy, A., U. Tomasi and A. Treviani
The Role of Lipids in the Activity of Adenyl Cyclase of Rat Liver Plasma Membranes
Arch. Biochem. Biophys., 147, pp. 36 - 40 (1971)

20) Emmelot, P. and C.J. Boes
Studies on Plasma Membrane
V. On the Lipid Dependence of some Phosphohydrolases of isolated Rat Liver Plasma Membranes
Biochim. Biophys. Acta, 150, pp. 341 - 353 (1968)

21) Duttera, S.M., W.C. Byrne and M.C. Ganoza
Studies on the Phospholipid Requirement of Glucose 6-Phosphatase
J. Biol. Chem., 243
pp. 2216-2228 (1968)

22) Hirata, F.
Enzymatic Synthesis and rapid Translocation of Phosphatidylcholine by Two Methyltransferases in Erythrozyte Membranes
Proc. Nat. Acad. Sci. USA
Vol. 75, No 5, pp. 2348 - 2352 (1978)

23) Renooij, W.
The Transposition of Molecular Classes of Phosphatidylcholine across the Rat Erythrozyte Membrane and their Exchange between the Red Cell Membrane and Plasma Proteins
Biochim. Biophys. Acta, Vol. 470, pp. 465-474 (1977)

24) Shapiro, D.C. and V.T. Marchesi
Phosphorylation in Membranes of Intact Human Erythrocytes
J. Biol.Chem.
Vol. 252, pp. 508 - 517 (1977)

25) Borochou, H.
The Effect of Phosphatidylcholine to Sphingomyelin Mole Ratio on the dynamic Properties of Sheep Erythrocyte Membranes
Biochim.Biophys.Acta
Vol. 470, pp. 382-388 (1977)

26) Bruckdorfer, K.R. and J.M. Graham
The Exchange of Cholesterol and Phospholipids between Cell Membranes and Lipoproteins
In: ed. by Chapman, D. and D. F.H. Wallach
Biological Membranes
Academic Press London 1976, Vol. 3

27) van Dijck, P.W.
Calorimetric Behaviour of Individual Phospholipid Classes from Human and Bovine Erythrocyte Membranes
Chem. Phys. Lipids
Vol. 17, pp. 336 - 343 (1976)

28) Ferber, E.
Phospholipid Dynamics in Plasma Membranes
In: ed. by Chapman, D. and D.F.H. Wallach
Biological Membranes
Academic Press, London, pp. 221 - 249 1973, Vol. 2

29) Renooij, W. and L.M. van Golde
The Exchange of Phospholipids between Rat Erythrocytes and Plasma, and the Translocation of Phosphatidylcholine across the Red Cell Membrane, are Temperature dependent Processes
Febs. Lett., 71 (2) pp. 321 - 324 (1977)

30) Cooper, R.A.
Factors Influencing the Lipid Composition and Fluidity of Red Cell Membranes in
Vitro: Production of Red Cells Possessing more than Two Cholesterol per Phospholipid
J.Am.Chem.S. Vol. 17 (1978), pp. 327 - 331

31) Huestis, W.H.
A Sodium-Specific Membrane Permeability Defect Induced by Phospholipid Vesicle Treatment of Erythrozytes
J. Biol. Chem.
Vol. 252, pp. 6764-6768 (1977)

32) Artom, C.
Formation of Phospholipids in Animal Tissue
In: Ed. by Mcelroy, W.D. and B. Glass
Phosphorus Metabolism
A Symposium on the Role of Phosphorus in the Metabolism of Plants and Animals
The John Hopkins Press, Baltimore 1952, Vol. 2

33) Brüh, W.
Leber- und Gallenwegserkrankungen
Thieme Verlag Stuttgart 1970

34) Schettler, G.
Handbuch der inneren Medizin
7. Bd. Stoffwechselkrankheiten 4 Teile
4. Teil Fettstoffwechsel
Springer-Verlag Berlin 1976 5. Auflage

35) Zöllner, N.
Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten
Thieme Verlag Stuttgart 1957

36) Cornatzer, W.E.
Phospholipide Metabolism in Human Liver Disease
In: Ed. by Mcelroy,W.D. and B. Glass
Phosphorus Metabolism
A Symposium on the Role of Phosphorus in the Metabolism of Plants and Animals
The John Hopkins Press, Baltimore 1952, Vol. 2

37) Takaku, F.
Pathophysiology of Red Cell Lipids
Acta Haem. Jap., Vol. 89, pp. 589 - 596 (1976)

38) Schulz, F., H. Stobbe
Grundlagen und Klinik innerer Erkrankungen
Thieme Verlag Stuttgart 1968

39) Neumayr, A.
Aktuelle Probleme der klinischen Hepatologie
Witzstrock Verlag - Baden - Baden 1975

40) Gülzow, M.
Gastroentrologie
Gustav Fischer-Verlag Jena 1969

41) Kühn, H., H. Wernze
Klinische Hepatologie
Thieme Verlag Stuttgart 1979

42) Okano, J.
Mechanism for Lipid Abnormalities of Erythrocyte Membranes in Biliary Obstruction: Lecithin Contents and its Fatty Acyl Composition
Clin. Chim. Acta, Vol. 88
pp. 237 - 248 (1978)

43) Scheig, R.
Duncans Diseases of Metabolism
In: Ed. by Bondy, P.K. and L.E. Rosenberg
Genetics and Metabolism
Saunders Company, Philadelphia 1974

44) Glomset, J.A. and K.R. Norum
The Metabolic Role of Lecithin:
Cholesterol: Acyl Transferase: Perspectives from Pathology
Adv. Lipid Res.
Vol. 11, pp. 1 - 65 (1973)

45) Glomset, J.A.
Recent Studies of the Role of the Lecithin-Cholesterol-Acyltransferase Reaction in Plasma Lipoprotein Metabolism
In: Ed. by Greten, H.
Lipoprotein Metabolism
Springer Verlag, Berlin 1975

46) Glomset, J.A. and R.B. Verdery
Role of LCAT in Cholesterol Metabolism
Expos. Annu. Biochem. Med., Vol. 33
pp. 137 - 142 (1977)

47) Glomset, J.A.
Lecithin: Cholesterol Acyltransferase
Prog. Biochem. Pharmacol., Vol. 15
pp. 41 - 66 (1979)

48) Stoffel, W.
Pleomorphe Funktionen von hochungesättigten Phospholipiden in biologischen Membranen und Serumlipoproteinen
Med. Welt Bd. 29, Heft 4
pp. 124 - 131 (1978)

49) Kunz, Fl. und H. Hörtnagel
Phospholipide
ed. by Hinsberg, K. und K. Lang
Medizinische Chemie
Urban Schwarzenberg München - Berlin - Wien 1957
3. Auflage

LEBENSLAUF

Am 21. April 1954 wurde ich, Eva-Maria Wilhelm, als ältestes von fünf Kindern des Ehepaares Dr. med. Luitpold Wilhelm und Dr. med. Stefanie Wilhelm, geb. Winterl, in Homburg/Saar geboren.

1961 wurde ich in Kaiserslautern eingeschult, besuchte nach dem Umzug der Familie 1963 nach Duisburg-Homborn die Volksschule bis 1964 und im Anschluß daran das dortige neusprachliche Gymnasium.
1967 übersiedelte unsere Familie nach Würzburg, wo ich 1974 am hiesigen neusprachlichen Gymnasium die Reifeprüfung absolvierte.
Zum WS 1974/75 immatrikulierte ich mich an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg für die Studienfächer Theologie und Französisch.
Im WS 1975/76 begann ich mein Studium für Humanmedizin an der Würzburger Universität.
Das WS 1979/80 verbrachte ich im Sinne eines Auslandsstudiums an der Universität Wien. Ab SS 1980 studierte ich wieder in Würzburg.
Im April 1982 beendete ich mein Studium mit dem dritten Teil des medizinischen Staatsexamens.

Eva-Maria Wilhelm